



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑳ Aktenzeichen: P 44 33 827.9  
㉑ Anmeldetag: 22. 9. 94  
㉒ Offenlegungstag: 28. 3. 96

DE 44 33 827 A 1

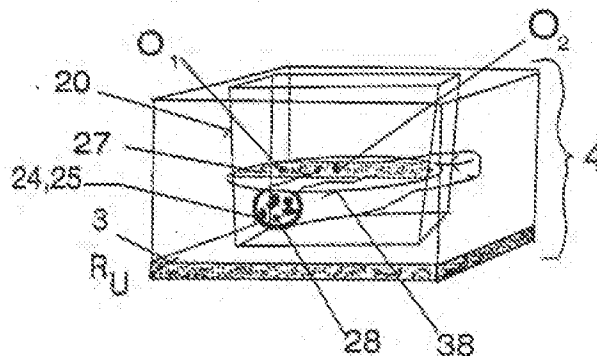
㉑ Anmelder:  
Friedrich-Schiller-Universität Jena, 07743 Jena, DE

㉒ Erfinder:  
Schweitzer, Dietrich, Dr., 07808 Naustadt, DE;  
Hammer, Martin, Dipl.-Phys., 07743 Jena, DE;  
Scibor, Mateusz, Dipl.-Ing., 07745 Jena, DE; Leistritz,  
Lutz, Dr.rer.nat., 07747 Jena, DE

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

㉓ Anordnung und Verfahren zur Messung von Stoffparametern in Schichten von Medien, insbesondere zur richtungsfreien in vivo Messung der Sauerstoffsättigung in optisch zugängigen Blutgefäßen

㉔ Die Erfindung betrifft eine Anordnung und ein Verfahren zur Messung von Stoffparametern in Schichten von Medien, insbesondere zur richtungsfreien in vivo Messung der Sauerstoffsättigung in optisch zugängigen Blutgefäßen. Die Erfindung ist besonders für reflektometrische Messungen am Augenhintergrund und an eröffneten Organen geeignet, bei denen die Gefäße optisch besonders gut zugänglich sind. Die Schichten des Mediums können gleiche oder verschiedene Aggregatzustände (gasförmig, flüssig, fest) haben. Untersuchungsobjekt ist eine Struktur, der einerseits Schichten vorgelagert sind und die andererseits vor einem beliebig spektral reflektierenden Hintergrund liegt. Im Untersuchungsobjekt können die relativen Anteile von einer oder mehreren Komponenten bestimmt werden, die sich in ihren spektralen Eigenschaften in bekannter Weise spezifisch unterscheiden. Die Bestimmung der Stoffparameter erfolgt durch eine Approximation des ermittelten veranschauigten Extinktionsspektrums durch eine Modellfunktion mittels nichtlinearer Ausgleichsrechnung. Die Meßergebnisse sind örtlich und spektral hochaufgelöst und unabhängig von den spektralen Eigenschaften des Untergrundes, der Schichten vor der Struktur und der Meßanordnung.



DE 44 33 827 A 1

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine Anordnung und ein Verfahren zur Messung von Stoffparametern in Schichten von Medien insbesondere zur eichungsfreien in vivo Messung der Sauerstoffsättigung in optisch zugängigen Blutgefäßen. Die Erfindung ist besonders für reflektometrische Messungen am Augenhintergrund und an eröffneten Organen geeignet, bei denen die Gefäße optisch besonders gut zugänglich sind. Der Augenhintergrund ist jedoch in der nachfolgenden Beschreibung nur ein Beispiel für ein beliebiges, aus zumindest teilweise lichtdurchlässigen Schichten bestehendes Medium, an dem das extrem hochauflösende Verfahren und die Anordnung beschrieben werden. Die Schichten des Mediums können gleiche oder verschiedene Aggregatzustände (gasförmig, flüssig, fest) haben. Untersuchungsobjekt ist eine Struktur, der einerseits Schichten vorgelagert sind und die andererseits vor einem beliebig spektral reflektierenden Hintergrund liegt. Im Untersuchungsobjekt können die relativen Anteile von einer oder mehreren Komponenten bestimmt werden, die sich in ihren spektralen Eigenschaften in bekannter Weise spezifisch unterscheiden.

Die mit Hilfe der Erfindung zu lösende Problemstellung wird nachfolgend am Beispiel von Untersuchungen am Auge beschrieben, die zur Messung der Sauerstoffsättigung in einem Blutgefäß dienen.

Die Sauerstoffsättigung ist der relative Anteil von Sauerstoff tragendem Oxyhämoglobin an der gesamten Hämoglobinmenge, die zum Transport von Sauerstoff im Blutgefäß in der Lage wäre. Damit geht der Anteil von Hämoglobinderivaten wie Carboxyhämoglobin, Sulfhämoglobin und Hämoglobin nicht in die Berechnung der Sauerstoffsättigung ein. Für die Definition der Sauerstoffsättigung OS gilt folgende Beziehung:

$$OS = \frac{c_{HbO_2}}{c_{HbO_2} + c_{Hb}} \quad (1)$$

Die unterschiedlichen Verläufe der spektralen Extinktionskoeffizienten von Oxyhämoglobin ( $HbO_2$ ) und von Hämoglobin ( $Hb$ ) im sichtbaren Spektralbereich sind die Grundlage für eine spektrometrische Meßbarkeit der einzelnen Blutkomponenten. Die lineare gewichtete Addition der einzelnen Komponenteneextinktionen zu dem Summenextinktionskoeffizienten des Mischblutes ermöglicht eine Messung der Sauerstoffsättigung. Unter expliziter Angabe der Sauerstoffsättigung wird die Extinktion hämolysierten Mischblutes berechnet nach:

$$E(\lambda) = c \cdot d [e_{Hb}(\lambda) + OS(e_{HbO_2}(\lambda) - e_{Hb}(\lambda))] \quad (2)$$

Die mittlere Konzentration  $c$  des Hämoglobins im Blut beträgt  $8,9 \cdot 10^{-6}$  Mol/cm<sup>3</sup>. Die Schichtdicke  $d$  wird in cm angegeben. Am isosbestischen Punkt bei 586 nm haben die dekadischen Extinktionskoeffizienten von  $Hb$  und  $HbO_2$  den gleichen Wert  $7,23 \cdot 10^6$  cm<sup>2</sup>/Mol. In einer hämolysierten Blutprobe, die in einer Küvette mit bekannter Schichtdicke gemessen wird, sind lediglich die Unbekannten Konzentration und Sauerstoffsättigung zu bestimmen.

Bei dieser Messung wird die Gültigkeit des Gesetzes von Lambert und Beer angenommen. Erfolgt die Messung an Vollblut, so tritt zusätzlich zur Absorption des Hämoglobins noch eine Streuung an Erythrozyten und gegebenenfalls an der Gefäßwand auf.

Für Messungen am Augenhintergrund, die in Reflexion ausgeführt werden müssen, sind weiterhin die maximal zulässigen Expositionsbedingungen zu berücksichtigen, so daß in Abhängigkeit von der spektralen Auflösung mit meßbaren Strahlungsleistungen von  $10^{-11}$  W zu rechnen ist. Bei Messung der Sauerstoffsättigung in Transmission sind die Meßbedingungen wesentlich entschärft.

Von Hickam JS, Frayser R, Ross JC: "A study of Retinal Venous Blood Oxygen Saturation in Human Subjects by Photographic Means" in Circulation 27 (1963) 375ff wurde gezeigt, daß die Sauerstoffsättigung in Arterien und Venen der Netzhaut im Papillengebiet prinzipiell meßbar ist. Der Fundus wird im Umfeld der Papille mit weißem Licht beleuchtet. Zwei Kameras, vor denen sich Interferenzfilter mit den Mittenwellenlängen der Transmission von  $\lambda_1 = 505$  nm und  $\lambda_2 = 640$  nm oder  $\lambda_1 = 640$  nm und  $\lambda_2 = 800$  nm befinden, liefern gleichzeitig zwei Bilder des Augenhintergrundes. Es wird davon ausgegangen, daß die Gefäße so dünn sind, daß das meiste Licht diese durchdringt und an dem darunter liegenden Papillengewebe reflektiert wird. Weiterhin wird angenommen, daß von den Gefäßen wenig Licht regulär reflektiert wird. Die Lichtschwächung im Gefäß genügt dann dem Gesetz von Lambert und Beer.

Aus den Schwärzungen der Meßpunkte auf den Gefäßen bei  $\lambda_1$  und  $\lambda_2$  und den Schwärzungen der Papille bei  $\lambda_1$  und  $\lambda_2$  kann die Sauerstoffsättigung unter Benutzung einer experimentell ermittelten Eichkurve berechnet werden. Es besteht folgender linearer Zusammenhang

$$\text{Sauerstoffsättigung} = K_1 + K_2 \cdot G \quad (3)$$

Die Konstanten  $K_1$  und  $K_2$  hängen vom Gefäßdurchmesser und von der gewählten Wellenlängenkombination ab und werden durch in vitro Modellversuche bestimmt. Die Variable  $G$  wird aus den Bildschwärzungen bestimmt nach

$$G = \frac{(\text{Schwärzung der Papille} - \text{Schwärzung des Gefäßes})_{\lambda_1}}{(\text{Schwärzung der Papille} - \text{Schwärzung des Gefäßes})_{\lambda_2}} \quad (4)$$

Auch bei Übereinstimmung der Durchmesser von Gefäß und Kapillare, größter Sorgfalt bei Belichtung (Parallelphotographie) und Entwicklung, ist die Sauerstoffsättigung nicht besser als mit einer Unsicherheit von  $\pm 10\%$  bestimmbar. Zur Feststellung von pathologischen Veränderungen der Sauerstoffsättigung wird eine Unsicherheit von  $\pm 1\%$  angestrebt. Die Notwendigkeit einer Eichung sollte vermieden werden.

Auf der Grundlage der Untersuchungen von Pittman, R. N. und Duling B. R. (1975): "Measurement of percent oxyhemoglobin in the microvasculature" in J. Appl. Physiol. 38, 321, hat F. C. Delori: "Noninvasive technique for oximetry of blood in retinal vessels" in Applied optics Vol. 27, No. 6, 1113—1125 (1988) eine Methode entwickelt, mit der die eichungsfreie Messung der Sauerstoffsättigung in retinalen Gefäßen möglich ist. Dazu wird ein Feld von ungefähr 1,5 mm Durchmesser am Augenhintergrund nacheinander mit Licht der Wellenlängen  $\lambda_1 = 559 \text{ nm}$ ,  $\lambda_2 = 569 \text{ nm}$  und  $\lambda_3 = 586 \text{ nm}$  beleuchtet. Ein Galvanometerscanner überstreicht mit einem Feld der Breite von 1/5 der Gefäßweite und einer Höhe von der fünffachen Gefäßweite mehrfach das Gefäßprofil und liefert ein mittleres Profil für jede verwendete Wellenlänge.

Der Grundgedanke dieser Methode besteht darin, daß die Extinktion des Vollblutes aus der Extinktion des hämolysierten Blutes durch Addition eines wellenlängenunabhängigen Streutermes  $S$  entsteht:

$$E(\lambda) = S + c \cdot d \cdot s \cdot (e_{Hb}(\lambda) + OS[e_{HbO_2}(\lambda) - e_{Hb}(\lambda)]) \quad (5)$$

In dieser Formel ist  $S$  der aselective Streuterm und  $s$  ist ein Geometriefaktor, der berücksichtigt, daß nur ein Teil des Lichtes, das durch das Gefäß tritt, auch durch die Augenpupille gelangt (Aperturblendenteilung) und von dem Detektorsystem erfaßt werden kann. Diese Formel beschreibt einen linearen Zusammenhang zwischen der gemessenen Extinktion und der zu berechnenden Sauerstoffsättigung. Der aselective Streuterm ist der Schnittpunkt mit der Ordinate, und der Anstieg der Funktion wird durch das Konzentrations-Schichtdicken-Geometrie Produkt bestimmt. Der Anstieg von Gleichung (5) ist im Vollblut wegen  $s < 1$  immer kleiner als im hämolysierten Blut. Nach Delori ist die Abhängigkeit der gemessenen Extinktion von der Sauerstoffsättigung in einem schmalen Bereich um  $575 \text{ nm} \pm 15 \text{ nm}$  gut zu beschreiben, wenn  $S = 0,325$  und  $s = 0,73$  angenommen werden. Diese Einschränkung erfolgt durch die Annahme einer wellenlängenunabhängigen Streuung.

Damit ist diese Methode zur Messung der Sauerstoffsättigung unter Verwendung starker auseinanderliegender Wellenlängen nicht geeignet.

Mit Hilfe der Parameter  $S$  und  $s$  läßt sich abschätzen, mit welcher Änderung der Extinktion zwischen  $0\%$  und  $100\%$  Sauerstoffsättigung bei einer definierten Gefäßweite und bei einer diskreten Wellenlänge zu rechnen ist.

Tabelle 1

Änderung der Extinktion von Vollblut in Abhängigkeit von der Sauerstoffsättigung

Gefäßweite in $10^{-3} \text{ mm}$	Sauerstoffsättigung in %	Wellenlänge in nm	Extinktion	Differenz der Extinktionen
50	0	559	0.779	
	100		0.617	0.162
100	0	559	1.23	
	100		0.909	0.321
200	0	559	2.144	
	100		1.494	0.650

Geht man davon aus, daß die gemessene spektrale Extinktion des Vollblutes durch die Extinktion des hämolysierten Blutes und die aselective Streuung  $S$  nach Gleichung (5) beschrieben werden kann, so sind drei Unbekannte zu bestimmen:

- die aselective Streuung  $S$ ,
- das Konzentrations-Schichtdicken-Geometrie Produkt  $c \cdot d \cdot s$  und
- die gesuchte Sauerstoffsättigung  $OS$ .

Zur Lösung dieses entstehenden Gleichungssystems sind spektrale Messungen bei mindestens drei Wellenlängen notwendig. Mindestens eine Messung muß bei einer Wellenlänge erfolgen, bei der sich die Extinktionskoeffizienten von  $HbO_2$  und  $Hb$  unterscheiden. Für die beiden anderen Wellenlängen können isosbestische Punkte

verwendet werden.

Nachfolgend werden verallgemeinert die Wellenlängen a, b, c, d betrachtet. Die Extinktion des Blutgefäßes für die jeweilige Wellenlänge wird analytisch nach Gleichung (5) berechnet.

Dagegen wird die experimentell bestimmte Extinktion eines Blutgefäßes für die Wellenlänge  $\lambda$  aus den Intensitäten berechnet, die auf dem Gefäß und in dessen Nachbarschaft gemessen werden:

$$E(\lambda) = \log \frac{I_U(\lambda)}{I_G(\lambda)} \quad (6)$$

Mit der Variablen T

$$T = \frac{E_a - E_b}{E_c - E_d}, \quad (7)$$

wobei für die Wellenlängen a, b, c, d

$a \neq b$  und  $c \neq d$  gilt,

wird für die gemessenen Extinktionen und mit der Vereinbarung

$$\begin{aligned} \epsilon_a(b, c, d)1 &= \epsilon_{Hb} \\ \epsilon_a(b, c, d)2 &= \epsilon_{HbO2} \end{aligned}$$

die Sauerstoffsättigung nach Formel (8) berechnet:

$$OS = \frac{(\epsilon_{a1} - \epsilon_{b1}) - (\epsilon_{c1} - \epsilon_{d1}) \cdot T}{(\epsilon_{a2} - \epsilon_{b2}) \cdot (\epsilon_{c1} - \epsilon_{d1}) + (\epsilon_{c2} - \epsilon_{d2}) \cdot T - (\epsilon_{a2} - \epsilon_{b2}) \cdot T} \quad (8)$$

Für isosbestische Punkte verschwinden in Gleichung (8) die Differenzen der Extinktionskoeffizienten bei der gleichen Wellenlänge.

Die Anforderungen an das Meßsystem sind bei dieser Vorgehensweise extrem hoch. In Tabelle 1 sind die Änderungen der Extinktion im Vollblut angegeben, die bei verschiedenen Gefäßweiten zwischen 0% und 100% Sauerstoffsättigung zu erwarten sind.

Soll die Berechnung der Sauerstoffsättigung innerhalb einer bestimmten Unsicherheit z. B. 10%, 5%, 2% möglich sein, so müssen die Änderungen der Extinktion des Vollblutes, die in Abhängigkeit von der Sauerstoffsättigung auftreten, mindestens auch mit diesem Fehler meßbar sein. Es ist von grundlegender Bedeutung, daß die kleinste nachweisbare Änderung der Extinktion vom detektierten Signal und dessen Rauschanteil abhängig ist.

Die kleinste nachweisbare Extinktionsänderung ergibt sich aus:

$$\begin{aligned} \Delta E &= \log \frac{I}{I - \sigma} = \log \frac{SNR}{SNR - 1} \\ \Delta E &= \log \frac{I_m}{I_m - \sqrt{I_m + I_d}} \\ \text{mit } I_d &\rightarrow 0 \\ \Delta E &= \log \frac{10^{-E}}{10^{-E} - \sqrt{10^{-E}}} \quad (9) \end{aligned}$$

mit

$I$  = Signal

$\sigma$  = Streuung

$I_m$  = Meßintensität

$I_d$  = Intensität des Dunkelstromes.

Je kleiner das Signal/Rausch Verhältnis SNR ist, desto größer ist die kleinste nachweisbare Änderung der Extinktion  $\Delta E$ . Weiterhin ist zu beachten, daß sich die Extinktion in diesem Gleichungssatz additiv aus der

Extinktion des Untergrundes und der Extinktion des Vollblutes nach Gleichung (5) zusammensetzt. Mit steigender Gesamtextinktion wird die minimal nachweisbare Änderung der Extinktion immer größer. Das heißt, daß selbst bei gleicher Gefäßweite, gleicher Sauerstoffsättigung und damit gleicher Extinktion des Blutes mit zunehmender Extinktion des Untergrundes (geringere Reflexion) die Sauerstoffsättigung mit einem immer größeren Fehler berechnet wird. Mittlere Werte für die Gesamtextinktion des Augenhintergrundes sind:

Tabelle 2

Mittlere Extinktion an Fundusorten

Fundusort	Extinktion
Papille	0,7
papillo-makuläres Bündel	1,7 bis 2,2
Makula	2,4 bis 3

Unter der Voraussetzung eines ideal gekühlten Empfängers, bei dem der Dunkelanteil  $I_d = 0$  ist, wird unter der Annahme einer Poissonverteilung der registrierten Photonen das Rauschen aus der Wurzel der registrierten Photonen berechnet. Mit diesen Angaben kann die theoretische Grenze für die kleinste nachweisbare Änderung der Extinktion für jede Meßapparatur berechnet werden.

Das heißt, je größer die Intensität  $I_0$  ist, die von einem Modellauge mit Weißstandard als Augenhintergrund gemessen wird, desto größer ist das Signal/Rausch Verhältnis und um so kleiner ist die minimal nachweisbare Änderung der Extinktion.

Der Grenzwert für die maximal zulässige Exposition ergibt sich aus der maximal zulässigen Bestrahlungsstärke (cw-Betrieb) oder der maximal zulässigen Energie (Impulsbetrieb), die nach dem ANSI-Standard Z136.1 — 1986 festgelegt sind. Um die Sauerstoffsättigung nach dieser Methode bestimmen zu können, muß die realisierte Exposition nahe am maximal zulässigen Grenzwert gewählt werden. Um ein ausreichendes Signal/Rausch Verhältnis zu erreichen, ist über eine größere Zahl von Messungen zu mitteln, was zu einer starken Patientenbelastung führt. Patientenbewegungen während der Messungen werden nicht berücksichtigt und verschlechtern das Meßergebnis.

Durch das gewählte Scan-Prinzip zur Messung des von der Umgebung und dem Gefäß reflektierten Lichtes treten störende Anteile des regulär reflektierten Lichtes auf dem Gefäß stark in Erscheinung.

Eine wesentliche Verbesserung der meßtechnischen Voraussetzungen für die Messung der Sauerstoffsättigung wurde von Schweitzer und Hammer durch die in der Patentanmeldung "Anordnung zur spektrometrischen Untersuchung" (DE-P 44 10 690.4) angegebene Imaging-Spektrometrie geschaffen. Nach diesem Prinzip werden von allen Orten eines näherungsweise konfokal abgetasteten Gebietes mit einer hohen Ortsauflösung gleichzeitig Reflexionsspektren gemessen. Auf diese Weise sind sowohl die Messungen auf einem Gefäß als auch die Messungen in der Umgebung des Gefäßes durch die gleichen Störeinflüsse wie Okulartransmission, Schwankungen der Bestrahlungsstärke usw. beeinflusst, so daß deren Einfluß auf die Berechnung der optischen Dichte des Gefäßes eliminiert werden kann. Dort wird die Imaging-Spektrometrie auf die Bestimmung der Sauerstoffsättigung auf das von Delori angegebene Prinzip der Drei-Wellenlängen-Methode angewandt.

Aus den Forderungen nach der mindestens auflösbaren Extinktionsänderung innerhalb eines Blutgefäßes mit veränderlicher Sauerstoffsättigung, den wirksamen Gesamtextinktionen bei Lage des Gefäßes vor unterschiedlich reflektierenden Fundusorten und der theoretisch nachweisbaren Auflösungsgrenze eines Spektrometers in Abhängigkeit von der Gesamtextinktion lassen sich Bedingungen für die Meßbarkeit der Sauerstoffsättigung ableiten.

In Fig. 1 sind diese Zusammenhänge für die Wellenlänge 559 nm dargestellt. Im oberen Teil von Fig. 1 sind die sättigungsunabhängige Extinktion des Vollblutes sowie die Änderung der Extinktion des Blutes bei Sauerstoffsättigungen von 0% bis 100% und den Gefäßweiten 50  $\mu$ m, 100  $\mu$ m und 200  $\mu$ m nach Addition zur Extinktion der Papille als Untergrund angegeben. Aus der jeweiligen sättigungsbedingten Änderung der Extinktion des Blutes bei unterschiedlichen Gefäßweiten wird die erforderliche nachweisbare Änderung der Extinktion am Fundus berechnet, die für die Messung der Sauerstoffsättigung mit einem definierten Fehler (2%, 5%, 10%) erforderlich ist. Im unteren Teil von Fig. 1 sind die experimentell bestimmten und die theoretisch kleinsten mit einem Imaging-Spektrometer nachweisbaren Änderungen der Extinktion in Abhängigkeit von der Gesamtextinktion dargestellt (Kurven).

Die für die Messung der Sauerstoffsättigung notwendigen Änderungen der Extinktion sind ebenfalls dort eingetragen (Punkte). Aus der Darstellung folgt, daß nur bei der Papille als Untergrund die Sauerstoffsättigung praktisch mit einem Fehler von 10% meßbar ist. Das untersuchte Blutgefäß sollte möglichst dick sein (200  $\mu$ m). Die praktische und die theoretische Nachweisgrenze wurden auf der Grundlage von 200 Einzelmessungen und durch Zusammenfassen von 384 Spaltenpixeln berechnet. Das bedeutet, daß die Sauerstoffsättigung auch nach dieser Methode nicht mit der erforderlichen Genauigkeit meßbar ist.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren und eine Anordnung zu entwickeln, die es ermöglichen, Messung von Stoffparametern einer von Schichten überdeckten Struktur innerhalb eines Mediums mit einer sehr hohen örtlichen Auflösung und Genauigkeit des Stoffparameters (z. B. relative Konzentration) zu erzielen.

Insbesondere soll an Probanden die Sauerstoffsättigung des Vollblutes in einem definierten Gefäß trotz eines schlechten Signal/Rausch Verhältnisses und geringer Untergrundreflexion mit einer hohen Genauigkeit nichtinvasiv und in vivo bestimmt werden können. Die Messung soll bei minimaler Patientenbelastung erfolgen. Die

Einflüsse der Probandenbewegung und der Schichten vor der zu untersuchenden Struktur (Einfluß der spektralen Transmission der Okularmedien) sollen weitestgehend reduziert werden.

Die spektralen Eigenschaften der Lichtquelle und des Empfängers sollen ebenso ohne Einfluß sein.

Die Aufgabe wird bei dem Verfahren erfindungsgemäß durch die Merkmale des 1. Anspruches oder des 2. Anspruches gelöst.

Die Unteransprüche 3 bis 16 sind vorteilhafte Ausgestaltungen der Hauptansprüche.

Die Aufgabe wird bei der Anordnung erfindungsgemäß durch die kennzeichnenden Merkmale des 17. Anspruches gelöst.

Die Unteransprüche 18 bis 24 sind vorteilhafte Ausgestaltungen des Hauptanspruches.

Die Darlegung des Wesens der Erfindung erfolgt anhand der Bestimmung der Sauerstoffsättigung des Vollblutes durch Messungen an Gefäßen, die am Augenhintergrund eines Probanden vorgenommen werden.

Die nachfolgenden Ausführungen sind so zu lesen, daß

das Patientenauge dem Medium,

das Gefäß der Struktur,

15 die Blutbestandteile dem Stoff,

die Sauerstoffsättigung dem Stoffparameter,

das Ophthalmoskop einem Reflektometer

entsprechen.

Das Wesen der Erfindung besteht bei der Lösung des Problems der Messung der Sauerstoffsättigung des Vollblutes in einem definierten Gefäß darin, daß die Extinktion des Vollblutes so betrachtet wird, daß sie sich aus der Extinktion des hämolysierten Blutes, die von der Sauerstoffsättigung abhängt, und weiterhin aus einer wellenlängenabhängigen Streuung zusammensetzt, die durch gleichzeitige Aufnahme der Reflexionsspektren eines Gefäßes und der Gefäßnachbarschaft mindestens von 500 nm bis 600 nm mit einer spektralen Auflösung kleiner als 5 nm mit einem Imaging-Spektrometer gemessen wird.

25 Aus den verrauschten Meßwerten bei einer Vielzahl von Wellenlängen wird durch nichtlineare Ausgleichsrechnung der Verlauf einer Modellfunktion bestimmt, in der die Sauerstoffsättigung, ein Konzentrations-Schichtdicken-Geometrie Produkt, die Streuintensität und ein Streuexponent optimiert werden, bis die quadratische Fehlersumme zwischen den Meßwerten und einer Modellfunktion minimiert ist. Die spektrale Extinktion eines Gefäßes wird aus der reflektierten Intensität der Nachbarschaft und der reflektierten Intensität auf dem Gefäß nach Gleichung (10) berechnet:

$$E(O, \lambda) = \log \frac{I(O_1, \lambda)}{I(O_2, \lambda)} \quad (10)$$

35

Dabei sind die Intensitäten  $I(O_1, \lambda)$  und  $I(O_2, \lambda)$  die gleichzeitig gemessenen spektralen Intensitäten des Lichtes von der Gefäßumgebung und von dem Gefäß, die mit dem geräteinternen und dem intraokulären spektralen Streulicht korrigiert wurden. Die Beziehung, nach der die für jede Wellenlänge nach Gleichung (10) gemessene Extinktion des Vollblutes aus den Absorptions- und Streueigenschaften des Blutes berechnet wird, zeigt die erfindungsgemäße Modellfunktion nach Gleichung (11):

40

$$E_1 = S + n \cdot \log \left( \frac{1}{\lambda} \right) + c \cdot d \cdot s \cdot \left( \varepsilon_m(\lambda) + OS [\varepsilon_{mO_2}(\lambda) - \varepsilon_m(\lambda)] \right) \quad (11)$$

45

Unbekannte Größen sind:

- 50 — S — wellenlängenunabhängiger Streuterm
- $c \cdot d \cdot s$  — Konzentrations-Schichtdicken-Geometrie Produkt
- OS — Sauerstoffsättigung
- n — Streuexponent.

55 Wesentlich ist neben der Formulierung der Extinktion des hämolysierten Blutes die Formulierung für die Wellenlängenabhängigkeit der Lichtstreuung im Vollblut

$$60 \left( S + n \cdot \log \left( \frac{1}{\lambda} \right) \right).$$

65

Zur parallelen Messung der Reflexionsspektren wird ein näherungsweise konfokales Imaging-Ophthalmospektrometer verwendet, mit dem ein kreisförmiger Bereich am Augenhintergrund beleuchtet wird, der Abschnitte von ein oder mehreren Gefäßen überdeckt. Ein spaltförmiger Ausschnitt dieses Bereiches wird auf den Eintrittsspalt eines Polychromators abgebildet, an dessen Ausgang eine intensivierte CCD-Matrix angeordnet ist, die mit einer definierten Ortsauflösung die Reflexionsspektren des Gefäßes und der Umgebung gleichzeitig detektiert.



Um die konfokale Abbildung der Feldblende und des Meßspaltes auf den Augenhintergrund zu gewährleisten, befindet sich ein bekanntes System zum Fehlsichtigkeitsausgleich im Beleuchtungsstrahlengang und im gemeinsamen Beobachtungs- und Meßstrahlengang.

Da die spektralen Messungen bei kleinsten Strahlungsleistungen ausgeführt werden, sind Streueinflüsse innerhalb der Meßanordnung und innerhalb des Auges zu berücksichtigen. Um diese gemeinsam zu erfassen, wird die Eigenschaft der Konfokalität ausgenutzt, nach der primär nur Licht empfangen wird, das aus der Konfokalebene am Augenhintergrund stammt. Der Einfluß von Streulicht wirkt unabhängig davon, ob auf einem beleuchteten oder einem unbeleuchteten Fundusareal gemessen wird.

Aus diesem Grunde werden durch die Wirkung einer Einrichtung zur Strahlformung und Strahlablenkung unterschiedliche Beleuchtungsbedingungen erzeugt.

In einem ersten Fall wird ein Fundusfeld außerhalb des konfokalen Meßfeldes (Meßspalt) erzeugt. In einem zweiten Fall wird das Meßfeld (Meßspalt) nur teilweise von der konfokalen Feldblende beleuchtet.

Das unter diesen Bedingungen gemessene Spektrum  $K(\lambda)$  ist das Untergrundspektrum, das von jedem ortsgeordneten Imaging-Spektrum zu subtrahieren ist. Mit dieser Operation wird das untergrundkorrigierte Imaging-Spektrum  $K(O, \lambda)$ , mit  $O$  — Ort und  $\lambda$  — Wellenlänge, erhalten.

Eine korrekte Messung der Sauerstoffsättigung erfordert, daß der Eintrittsspalt des Polychromators senkrecht zu dem zu messenden Gefäß ausgerichtet ist. Für diese Aufgabe ist es notwendig, eine Bilddrehung des beleuchteten Augenhintergrundes relativ zu dem Eintrittsspalt des Polychromators vorzunehmen.

Diese Bilddrehung wird dadurch erreicht, daß im Meß- und Beobachtungsstrahlengang des Ophthalmoskops ein Abschnitt mit parallelem Strahlengang vorhanden ist, in dem ein um die optische Achse drehbares Dove-Prisma angeordnet ist. Eine Drehung des Prismas um den Winkel  $\phi$  bewirkt eine Drehung des Bildes um  $2\phi$ .

Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Anordnung, bei der gleichzeitig die Reflexionsspektren von Gefäß und Umgebung mit definierter Ortsauflösung gemessen werden, besteht darin, daß es zur Bestimmung der optischen Dichte des Gefäßes nicht erforderlich ist, die gemessenen Spektren auf die Reflexion an einem Weißstandard zu normieren. Dadurch ist es möglich, den Dynamikbereich des Detektorsystems optimal zu nutzen.

Durch die erfindungsgemäße Anordnung und die erfindungsgemäße Berechnung der Extinktionsspektren des Vollblutes sind die Einflüsse der spektralen Charakteristik der Lichtquelle und des Empfängers beseitigt. Die spektrale Transmission der Okularmedien ist multiplikativ in allen örtlich aufgelösten Spektren enthalten, so daß sich diese nach Quotientenbildung aus dem Ergebnis herauskürzt.

Die spektrale Messung wird bei Beleuchtung des Augenhintergrundes mit weißem Blitzlicht vorgenommen. Unter diesen Bedingungen ist eine hohe Bestrahlungsstärke zulässig. Weiterhin ist der Einfluß des Dunkelstromes so klein, daß auf eine Kathodenkühlung verzichtet werden kann.

Werden zur Verbesserung des Signal/Rausch Verhältnisses mehrere Messungen ausgeführt, so ist mit zwei Fehlereinflüssen zu rechnen:

1. Änderung der Ortslage des beleuchteten und abgetasteten Feldes und
2. Änderung der Blitzintensität zwischen den Messungen.

Durch die Augenbewegungen ist damit zu rechnen, daß sich die Lage des Gefäßes relativ zu den Pixeln der Detektormatrix, die der Ortskoordinate entsprechen, geändert hat. Dieser Fehler wird dadurch korrigiert, daß mit dem Imaging-Spektrometer gewonnenen Bilder, die in einer Koordinate die Ortsinformation und in der anderen Koordinate die Wellenlängeninformation tragen, nach Korrektur mit dem Untergrundlicht  $K(\lambda)$  in der Ortskoordinate nach dem Kriterium der maximalen Korrelation des spektralen ortsabhängigen Intensitätsverlaufes zwischen den Bildern verschoben werden.

Schwankungen der Blitzenergie zwischen den einzelnen Aufnahmen und Unterschiede in der örtlichen Ausleuchtung werden dadurch korrigiert, daß für die Bildbereiche, die nach dieser Lagekorrektur als Durchschnitt in allen Bildern enthalten sind, eine Intensitätsanpassung so vorgenommen wird, daß das Integral der Intensität in jedem Bild bestimmt wird und das Verhältnis der integralen Intensität jedes Einzelbildes zur integralen Intensität des hellsten Bildes gebildet wird und jeder spektral ortsabhängige Meßwert jedes Einzelbildes mit dem inversen Verhältnis der Integralintensitäten auf das Niveau des hellsten Bildes abgeglichen wird.

Erst nach diesem Ausgleich unterschiedlicher Ausleuchtungen wird die Mittelung der zueinander zugeordneten örtlichen und spektralen Intensitäten pixelweise vorgenommen. Gegenüber einer Korrektur der Schwankungen der Blitzenergie durch paralleles Messen der Energie mit einer Detektoranordnung liefert die softwareseitige Korrektur der Blitzenergieschwankungen selbst am Modellauge ein mindestens um den Faktor "2" besseres Ergebnis. Weiterhin besteht der Vorteil, daß örtliche Unterschiede in der Fundusbeleuchtung durch die integrale Intensitätsanpassung ausgeglichen werden.

Die Verschiebung der Imaging-Spektren, die zur Überdeckung gleicher Strukturen führt, bewirkt gleichzeitig eine Reduktion des Einflusses der regulären Reflexion der Struktur (auf den Gefäßen) in der Berechnung der Stoffparameter (Sauerstoffsättigung). Der Einfluß der regulären Reflexion auf die Bestimmung der Sauerstoffsättigung kann weiterhin durch eine Modellrechnung korrigiert werden. Hierzu wird das Intensitätsprofil, das durch die spektrale Absorption des Blutes entsteht, so durch eine Glättungsfunktion nachgebildet, daß eine optimale Anpassung nach dem Kriterium der kleinsten Fehlerquadratsumme entsteht. Diese Korrektur kann sowohl für die gemessenen Einzelspektren als auch als Restkorrektur am gemittelten Bild nach der Bildlagenverschiebung und dem Ausgleich von Intensitätsschwankungen ausgeführt werden.

Als nächster Schritt werden nach Gleichung (10) die Einflüsse der spektralen Charakteristik der Lampe, des Empfängersystems und aller Schichten des Auges eliminiert, die gleichartig auf das Gefäß und auf dessen Nachbarschaft wirken.

$$\frac{I_U(\lambda)}{I_G(\lambda)} = \frac{I_{mU}(\lambda) - K(\lambda)}{I_{mG}(\lambda) - K(\lambda)} = 10^{c \cdot d \cdot \varepsilon(\lambda) + S(\lambda)}$$

$$\log \frac{I_U(\lambda)}{I_G(\lambda)} = c \cdot d \cdot \varepsilon(\lambda) + S(\lambda) = E(\lambda) \quad (12)$$

Nach diesen Korrekturrechnungen liegt das Extinktionsspektrum des Vollblutes in einem Gefäß vor. Die bei jeder Wellenlänge gemessene Extinktion  $E(\lambda)$  ist ein Wert auf der linken Seite von Gleichung (11). Erfindungsgemäß ist die Anzahl der Meßwellenlängen größer als die Zahl der Unbekannten. Damit liegt ein System von  $t+r$  Gleichungen zur Berechnung der  $t$  Unbekannten vor. Bei der analytischen Berechnung der  $t$  Unbekannten aus lediglich  $t$  Gleichungen wird das Ergebnis für die Sauerstoffsättigung wesentlich durch die Rauschanteile verfälscht, da jeder Meßwert auch nach der Korrektur aus einem fehlerfreien Anteil und einem Rauschanteil besteht.

Erfindungsgemäß erfolgt die Berechnung der Sauerstoffsättigung nach einem nichtlinearen Ausgleichsverfahren. Dabei wird Gleichung (11) so formuliert, daß die Sauerstoffsättigung, das Konzentrations-Schichtdicken-Geometrie Produkt, die wellenlängenunabhängige Streuintensität und der Streuexponent zu optimierende Parameter sind. Mit der so formulierten Gleichung wird der Verlauf des gemessenen Extinktionsspektrums approximiert. Die beste Lösung des Gleichungssystems für diese vier Parameter ist im Minimum der Fehlerquadratsumme zwischen Modellfunktion und korrigierten Meßwerten erreicht.

Für Messungen am Auge ist zweckmäßig, die Modellrechnungen auf den Bereich sicherer Meßwerte zu beschränken. Das heißt, Meßwerte für Wellenlängen kleiner als 500 nm bleiben unberücksichtigt. Es ist ausreichend, nur den Wellenlängenbereich zwischen 500 nm und 600 nm auszuwerten, da in diesem Bereich die Unterschiede von Hb und HbO<sub>2</sub> am vorteilhaftesten meßbar sind.

Durch das erfindungsgemäße Verfahren der Anpassung einer Modellfunktion an ein aus korrigierten Reflexionsmessungen berechnetes Extinktionsspektrum wird das wirksame Signal/Rausch Verhältnis etwa um die Wurzel aus der Zahl der verwendeten Stützstellen verbessert.

Das erfindungsgemäße Meßverfahren und die Anordnung ermöglichen, daß die Messung unabhängig

- von den spektralen Eigenschaften des Untergrundes des Meßobjektes (der Meßebene, Augenhintergrund),
- von den spektralen Eigenschaften der Medien vor dem Meßobjekt (Okularmedien),
- von der spektralen Charakteristik der Strahlungsquelle und
- von den spektralen Eigenschaften der Meßanordnung, insbesondere von der spektralen Charakteristik des Empfängers ausgeführt werden.

Die an Hand der Messung der Sauerstoffsättigung beschriebene Anordnung und das Verfahren sind auch für die Messung der Sauerstoffsättigung in Blutgefäßen, die während einer Operation freigelegt wurden, anwendbar.

In gleicher Weise bezieht sich das Wesen der Erfindung auf die Lösung technischer Aufgabenstellungen, wie

- die berührungslose Messung der Stoffkonzentrationen in einer Rohrleitung, deren optische Umgebungsbedingungen einer ständigen Veränderung unterliegen oder
- Konzentrationsmessungen in einer Glasschmelze, bei denen die störenden Einflüsse der Konvektion der Umgebungsluft und von Flammenbildern auszuschalten sind.

Die Erfindung wird nachfolgend anhand von Ausführungsbeispielen beschrieben. Es zeigen:

Fig. 1: Gegenüberstellung von erforderlicher, praktisch realisierbarer und theoretisch erreichbarer kleinster nachweisbarer Änderung der Extinktion zur Messung der Sauerstoffsättigung,

Fig. 2: Verallgemeinerte Beschreibung des Meßobjektes,

Fig. 3: Anordnung zur Messung,

Fig. 4a: Nichtüberdeckende Lage von Eintrittsspalt des Polychromators und Bild der konfokalen Blende am Augenhintergrund,

Fig. 4b: Überdeckende Lage von Eintrittsspalt des Polychromators und Bild der konfokalen Blende am Augenhintergrund,

Fig. 5: Teilweise Überdeckung des Eintrittspaltes des Polychromators durch das Bild der konfokalen Blende bei zentrischer Lage zwischen beiden,

Fig. 6: Approximation des Gefäßprofils bei konstanter Wellenlänge durch eine Glättungsfunktion zum Ausgleich von regulärer Reflexion auf dem Gefäß,

Fig. 7: Auswahl der Meßorte auf dem Gefäß und in dessen Umgebung,

Fig. 8: Gemessene Spektren von Gefäß und Umgebung,

Fig. 9: Approximation des Extinktionsspektrums des Vollblutes eines Gefäßes durch eine Modellfunktion,

Fig. 10: Vergleich zwischen spektrometrisch mit der vorgeschlagenen Anordnung in einer Arteriole eines Schweinegehirns gemessenen Sauerstoffsättigung und der laborchemisch bestimmten arteriellen Sauerstoffsättigung.



Fig. 11: Vergleich zwischen spektrometrisch mit der vorgeschlagenen Anordnung in einer Venole eines Schweinegehirns gemessenen Sauerstoffsättigung mit der laborchemisch bestimmten Sauerstoffsättigung aus einer Hirnvene.

Fig. 1 stellt die Notwendigkeit einer verbesserten Meßtechnik und eines verbesserten Verfahrens dar. Die Figur ist im Stand der Technik beschrieben.

In Fig. 2 ist das Meßobjekt beschrieben. In einem aus Schichten bestehenden Medium, hier dem Patientenauge 4, befindet sich eine Struktur 25, hier ein Gefäß 24, vor einem Untergrund, hier dem Augenhintergrund 3, der die Reflexion  $R_u$  hat. In der Struktur 25 befindet sich ein Stoff 28, hier Blut, von dem spektrometrisch und berührungslos Parameter, hier die Sauerstoffsättigung, bestimmt werden sollen. Das Meßgebiet 20 ist der Bereich des Mediums, hier das Patientenauge 4, aus dem Licht durch ein Detektorsystem 16 erfaßt und von einem Rechner 17 ausgewertet wird (siehe dazu Fig. 3).

Das Bild 38 einer konfokalen Feldblende 37 oder 33 entsteht bei Durchstrahlung des Meßgebietes 20 mit dem Licht einer Blitzlampe 9 auf der Struktur 24. Aus diesem vorzugsweise kreisförmig beleuchtetem Feld wird ein rechteckiges Meßfeld 27 über ein astigmatisches System 13 deckungsgleich auf den Eintrittspalt 14 eines Polychromators 15 abgebildet. Das an verschiedenen Orten ( $O_1$  neben der Struktur und  $O_2$  auf der Struktur) gemessene Licht wird für beide Orte gleichzeitig parallel als vollständiges Spektrum spektral zerlegt. Durch dieses Meßprinzip bleiben die spektralen Einflüsse des Untergrundes, des Detektors, der Strahlungsquelle und die Transmission der vorgelagerten Schichten ohne Einfluß auf das Meßergebnis. Nach Korrektur durch das Streulicht, das im Meßgebiet 20 und im Meßgerät selbst entsteht, wird aus dem Quotienten der Reflexionsspektren von der Umgebung der Struktur und von der Struktur 25 nach Logarithmieren das Extinktionsspektrum des Stoffes 28 (Vollblut im Gefäß 24) bestimmt. Mit einer geeigneten Modellfunktion wird der Verlauf dieses Extinktionsspektrums so approximiert, daß Parameter des Stoffes (Sauerstoffsättigung des Vollblutes) mit hoher Genauigkeit bestimmt werden können.

Fig. 3 zeigt die Anordnung zur Messung von Stoffparametern mittels des erfindungsgemäß ausgestalteten Reflektometers, im Beispiel ein messendes Ophthalmoskop (Netzhautkamera).

Es wird zuerst eine erste Variante für die Einheit zur Strahlformung und Strahlableitung 34 a beschrieben. Die Einrichtung zur Strahlformung und Strahlableitung 34 ist aus einer feststehenden konfokalen Feldblende 37 und einer ausschwenkbaren Glasplatte 36 aufgebaut.

Eine Umfeldbeleuchtung 1 beleuchtet über die Umlenkspiegel 10 und 11 den Augenhintergrund 3 des Patienten Auges 4 mit kontinuierlichem Licht. Nach dem Prinzip der Aperturblendenteilung erfolgt die reflexfreie Beobachtung des Augenhintergrundes 3 durch das Untersucherauge 6. Durch Einschwenken des Umlenkspiegels 12 wird der Augenhintergrund 3 auf den Eingangspalt 14 eines Polychromators 15 abgebildet. Durch die Wirkung eines astigmatischen Systems 13 wird nur ein schmaler Streifen des Augenhintergrundes 3 vom Eintrittspalt 14 des Polychromators 15 aufgenommen. Vor dem Untersucherauge 6 befindet sich im Beobachtungsstrahlengang 5 eine Okularmarke 7, die kongruent zu dem Meßfeld ist, das vom Eintrittspalt 14 des Polychromators 15 am Augenhintergrund 3 des Patienten Auges 4 festgelegt ist. Dieses Bild ist in x-Richtung, die der Spalthöhe entspricht, so ausgedehnt, daß es mindestens ein retinales Hauptgefäß einschließt dessen Umgebung überdeckt.

Der Untersuchungsort am Augenhintergrund 3 wird durch Einschalten der Umfeldbeleuchtung 1 in den Beleuchtungsstrahlengang 2 eingestellt, indem der Umlenkspiegel 10 eingeschwenkt ist und das Meßfeld 27 der Okularmarke 7 auf das zu untersuchende Gebiet positioniert wird.

Dabei ist der Umlenkspiegel 12 aus dem Beobachtungsstrahlengang 5 ausgeschwenkt. Im Beleuchtungsstrahlengang 2 befindet sich in einer Einrichtung zur Strahlformung und Strahlableitung 34 eine konfokale Feldblende 37, die so justiert ist, daß das Bild des Eintrittspaltes 14 des Polychromators 15 am Augenhintergrund 3 des Patienten Auges 4 zentrisch innerhalb des kreisförmigen Bildes 38 der konfokalen Feldblende 37 am Augenhintergrund 3 liegt. Diese Feldblende 37 kann entweder fest in dem Teil des Beleuchtungsstrahlengangs 2 angeordnet sein, der nur vom Licht der Blitzlampe 9 durchstrahlt wird oder diese Feldblende ist im Beleuchtungsstrahlengang 2 in einem Bereich einschwenkbar angeordnet, der gemeinsam vom Licht der Blitzlampe 9 und der Umfeldbeleuchtung 1 durchstrahlt wird. In der Einrichtung zur Strahlformung und Strahlableitung 34, die im Beleuchtungsstrahlengang 2 angeordnet ist, befindet sich in Lichtrichtung nach der konfokalen Feldblende 37 in einem parallelen Strahlengang eine schräggestellte ausschwenkbare Planplatte 36. Ein bilddrehendes Dove-Prisma 35 ist in einem parallelen Strahlengang von Beobachtungsstrahlengang 5 und Meßstrahlengang 26 drehbar um die optische Achse angeordnet.

In einer zum Augenhintergrund 3 des Patienten Auges 4 kongruenten Bildebene des Beleuchtungsstrahlengangs 2 befindet sich eine bewegliche Innenfixationsmarke 19. Das vom Augenhintergrund 3 reflektierte Licht, das über den eingeschwenkten Umlenkspiegel 12 und das astigmatische System 13 durch den Eintrittspalt 14 in den Polychromator 15 gelangt, wird im Polychromator zerlegt. Am Ausgang des Polychromators 15 befindet sich ein Restlicht-Detektorsystem 16, das eine CCD-Matrix-Empfängeranordnung enthält.

Wird angenommen, daß in x-Richtung die Zeilen und in y-Richtung die Spalten verlaufen, so detektiert jedes Empfängerelement in Spaltenrichtung einen monochromatischen Teil des spektral zerlegten Lichtes für jeden Pixelort, der durch die Anzahl der Empfängerelemente in x-Richtung auflösbar ist. Ein Rechner 17 verarbeitet die empfangenen Signale und stellt diese an einem Display 18 dar.

Zur gleichzeitigen Aufnahme der Spektren für alle Orte in x-Richtung wird der Augenhintergrund 3 mit Lichtblitzen aus einer Blitzlampe 9 über den Umlenkspiegel 11 beleuchtet. Für den Zeitraum des Lichtblitzes ist der Umlenkspiegel 10 aus dem Strahlengang geschwenkt.

Die Breite des Eintrittspaltes 14 bestimmt in Verbindung mit den dispergierenden Eigenschaften des Polychromators 15 und der Größe der Matrixelemente in y-Richtung die spektrale Auflösung. Die Größe der Matrixelemente in x-Richtung bestimmt unter Berücksichtigung des Abbildungsmaßstabes zwischen der Netz-

haut des Patienten Auges 4 und dem Netzhautbild in der Ebene des Eintrittspaltes 14 des Polychromators 15 die örtliche Auflösung am Augenhintergrund 3, wobei zur Abbildung des Eintrittspaltes 14 des Polychromators 15 auf den Augenhintergrund 3 ein astigmatisches System 13 im Meßstrahlengang 5 angeordnet ist.

Durch eine astigmatische Abbildung in x- und y-Richtung wird erreicht, daß dem Eintrittspalt des Polychromators unter Einhalten der Apertur des Polychromators am Augenhintergrund ein Meßfeld entspricht, dessen Ausdehnung in x-Richtung der geforderten Ausdehnung, mindestens als Überdeckung eines Gefäßes und dessen Nachbarschaft, zugeordnet ist. Die Ausdehnung des Meßfeldes in y-Richtung wird so gewählt, daß die Spaltbreite des Eingangspaltes des Polychromators eine spektrale Auflösung von etwa 3,5 nm ermöglicht.

Die Messung der Sauerstoffsättigung erfolgt nach folgendem Ablauf: Das Patientenauge 4 wird mit der Umfeldbeleuchtung 1 bestrahlt. Bei Fixation des Patienten Auges 4 auf die bewegliche Innenfixationsmarke 19 wird der Augenhintergrund 3 so ausgerichtet, daß ein interessierendes Gefäß 24 von dem Meßfeld 27, dem Bild der Okularmarke 7, am Augenhintergrund 3 überdeckt wird. Durch Drehen des Dove-Prismas 35 um einen Winkel  $\varphi$  wird das Bild des gesamten Augenhintergrundes 3 so ausgerichtet, daß das Meßfeld 27 das interessierende Gefäß 24 senkrecht schneidet (Fig. 4b). Im Anschluß daran erfolgt die Messung der Untergrundintensität, die vorwiegend durch Streueinflüsse im Gerät und im Auge verursacht ist.

Hierzu wird die schräggestellte Planplatte 36, die sich in der Anordnung zur Strahlformung und Strahlablenkung 34 (Fig. 3, Detail 34a) befindet, in den Beleuchtungsstrahlengang 2 eingeschwenkt, der Umlenkspiegel 10 umgekippt und der Augenhintergrund 3 mit dem weißen Licht der Blitzlampe 9 so beleuchtet, daß sich das Meßfeld 27 am Augenhintergrund und das von der ebenfalls in der Anordnung zur Strahlformung und Strahlablenkung 34 befindlichen konfokalen Feldblende 37 freigegebene beleuchtete Feld am Augenhintergrund 3 nicht überdecken (Fig. 4a).

Die Messung der spektralen Reflexion von Gefäß 24 gleichzeitig mit dessen Umgebung erfolgt im interessierenden Wellenlängenbereich so, daß die Planplatte 36 ausgeschwenkt ist und der interessierende Abschnitt des Gefäßes 24 mit der Blitzlampe 9 so beleuchtet wird, daß das von dort reflektierte Licht im Meßfeld 27 auf den Eintrittspalt 14 des Polychromators 15 abgebildet und nach spektraler Zerlegung im Polychromator 15 vom Detektorsystem 16 registriert wird.

Nach diesen Operationen liegen das Untergrundspektrum und das orts aufgelöste Imaging-Spektrum vom Gefäß 24 und von dessen Umgebung vor. Fig. 8 zeigt als Beispiel die Spektren, die von einem Gefäß und von dessen Umgebung gemessen wurden. Das Untergrundspektrum wird zum Ausgleich des störenden internen Streulichtes von jedem gemessenen Spektrum subtrahiert.

Somit ergibt sich das korrigierte orts aufgelöste Reflexionsspektrum

$$I_G(\lambda) = I_m(O, \lambda) - I_d(\lambda) \text{ für das Gefäß}$$

und

$$I_G(\lambda) = I_m(O, \lambda) - I_d(\lambda) \text{ für die Umgebung des Gefäßes.}$$

Zur Verbesserung des Signal/Rausch Verhältnisses werden mehrere Imaging-Spektren von dem interessierenden Gefäß 24 aufgenommen. Zum Ausgleich von Patientendefixationen werden die untergrundkorrigierten Imaging-Spektren nach dem Kriterium der maximalen Korrelation längs der Ortskoordinate x zueinander verschoben. Nach dieser Operation ist nur noch ein Teil der Bildmatrix als Durchschnitt in allen Teilbildern enthalten. Zum Ausgleich von Schwankungen der Bestrahlungsstärke zwischen den Messungen wird für jeden im Durchschnitt aller Bilder enthaltenen Bildteil das orts- und wellenlängenbezogene Integral der Intensität berechnet. Die Intensität jedes Bildpunktes eines Bildes wird mit dem Quotienten aus der integralen Intensität des hellsten Bildes und der integralen Intensität des betrachteten Bildes multipliziert.

Anschließend wird aus den verschobenen und skalierten Imaging-Spektren eine pixelweise Mittelwertbestimmung vorgenommen.

Durch die Beleuchtung des Gefäßes 24 unter unterschiedlichen Winkeln entstehen die Gefäßreflexe an unterschiedlichen Orten, so daß nach der Gefäßlagenkorrektur relativ zu den Pixeln der Bildmatrix der Einfluß der regulären Reflexion auf das gemittelte Bild reduziert ist.

Die Beseitigung der verbleibenden regulären Gefäßreflexion 41 kann durch Approximation des gemessenen Gefäßprofils 39 mit einer Glättungsfunktion 40 erreicht werden, die die Extinktion des Gefäßes 24 über dem Querschnitt des Gefäßes bei konstanter Wellenlänge beschreibt (Fig. 6). Nach dieser Operation erfolgt die Berechnung des Extinktionsspektrums des blutgefüllten Gefäßes 24.

Hierzu wird das korrigierte Reflexionsspektrum der Gefäßumgebung durch das korrigierte Reflexionsspektrum des Gefäßes dividiert und anschließend logarithmiert (Gleichung 10) (siehe Fig. 9). Bei hoher Sauerstoffsättigung ist in diesem Extinktionsspektrum des Vollblutes im Gefäß der spektrale Verlauf des Extinktionsspektrums von Oxyhämoglobin deutlich erkennbar. Dieses zum Teil stark verrauschte Extinktionsspektrum des Vollblutes im Gefäß 24 wird anschließend in einer nichtlinearen Ausgleichsrechnung durch die Modellfunktion nach Gleichung (11) approximiert. Hierzu werden die Parameter Streuintensität  $S$ , Konzentrations-Schichtdicken-Geometrie Produkt  $c \cdot d$ , der Streuexponent  $n$  und die Sauerstoffsättigung  $OS$  solange verändert, bis das Minimum der quadratischen Fehlersumme zwischen dem Extinktionsspektrum des Vollblutes 43 im Gefäß 24 und der Modellfunktion 42 erreicht ist (Fig. 9).

Die Ergebnisse einer derartigen Spektrenapproximation sind in Tabelle 3 angegeben.

Tabelle 3

Ergebnisse der Approximation des Extinktionsspektrums von Vollblut durch die Modellfunktion nach Gleichung (11)

Sauerstoffsättigung OS	: 55 %	+/- 2,1%	
Konzentrations - Schichtdicken - Geometrie			
Produkt c.d.s	: 0,0359	+/- 2,6%	10
Streuintensität S	: 1,33	+/- 27%	
Streuexponent n	: 0,49	+/- 26%	

Die Leistungsfähigkeit der vorgestellten Methode zur eichungsfreien in vivo Messung der Sauerstoffsättigung in optisch zugängigen Gefäßen wurde am Tiermodell unter verschiedenen Beatmungszuständen überprüft. Die spektrometrischen Messungen wurden gleichzeitig an einer Arteriole und an einer Venole eines Schweinegehirns ausgeführt. Vergleichsmessungen erfolgten durch laborchemische Bestimmung der Sauerstoffsättigung des linksventrikulären und des hirnvenösen Blutes. Fig. 10 zeigt einen linearen Zusammenhang zwischen den in vivo gemessenen arteriellen Sauerstoffsättigungswerten und den laborchemisch bestimmten Sauerstoffsättigungswerten des linksventrikulären Blutes. Die spektrometrisch nichtinvasiv in der Arteriole bestimmten Werte liegen innerhalb eines Toleranzbandes von +/- 4% um die ideale Gerade unter 45°.

Der in Fig. 11 dargestellte Zusammenhang zwischen der spektrometrisch in vivo bestimmten Sauerstoffsättigung in einer Hirnvenole und den laborchemisch bestimmten Sauerstoffsättigungswerten aus einer Hirnvene zeigt eine systematische Abweichung von -1,6% von der idealen Geraden unter 45°. Die Meßwerte liegen innerhalb eines Toleranzbandes von +/- 2%.

Die Einrichtung zur Strahlformung und Strahlblenkung 34 kann in einer zweiten Variante nach Fig. 3 auch so ausgeführt sein, daß in ihr eine bewegliche konfokale Feldblende 33 angeordnet ist, deren Bild zur Messung des Untergrundspektrums (geräteinternes und intraokulares Streulicht) bei der Beleuchtung des Augenhintergrundes 3 des Patienten Auges 4 das Meßfeld 27 nicht überdeckt (Fig. 3, Detail 34b, Fig. 4a).

Zur Messung des Spektrums von Gefäß und Umgebung ist die bewegliche konfokale Feldblende 33 in eine solche Position geführt (Fig. 3, Detail 34c, Fig. 4b), daß ihr Bild am Augenhintergrund das Meßfeld vollständig und zentrisch überdeckt. Die Messung des Untergrundspektrums und des Spektrums von Gefäß und Umgebung kann parallel erfolgen, wenn die feststehende konfokale Feldblende 37 das Meßfeld 27 zentrisch, aber nur teilweise überdeckt (Fig. 5). Von den unbeleuchteten Meßfeldern 31 auf beiden Seiten des konfokal beleuchteten Meßfeldes 30 wird das Untergrundspektrum (geräteinternes- und intraokulares Streulicht) gleichzeitig mit dem vom beleuchteten Meßfeld 30 gemessenen Reflexionsspektrum von Gefäß 24 und dessen Umgebung gemessen.

Der Ausgleich von Schwankungen der Blitzenergie der Blitzlampe 9 innerhalb einer Meßfolge kann auch so erfolgen, daß eine Lichtmeßeinheit 32 bei jeder Beleuchtung des Augenhintergrundes 3 mit Licht der Blitzlampe 9 deren Energie mißt und die dabei von jedem Bildpixel des Detektorsystems 16 gemessene Intensität mit dem Quotienten aus der größten Blitzenergie innerhalb einer Bildfolge und der Blitzenergie bei der Aufnahme des betrachteten Imaging-Spektrums im Rechner 17 multipliziert wird.

Um eine konfokale Abbildung des Meßfeldes 27 und des Bildes 38 der konfokalen Feldblende 33 oder 37 am Augenhintergrund 3 zu erreichen, sind im Beleuchtungsstrahlengang 2 und im Meß- und Beobachtungsstrahlengang 26 und 5 gleichzeitig wirkende bekannte Anordnungen zum Ausgleich der Fehlsichtigkeit des Patienten Auges 4 angeordnet.

#### Bezugszeichenliste

- 1 Umfeldbeleuchtung
- 2 Beleuchtungsstrahlengang
- 3 Augenhintergrund (Fundus)
- 4 Patientenauge
- 5 Beobachtungsstrahlengang
- 6 Untersucherauge
- 7 Okularmarke
- 8 Feldblende (einschwenkbar)
- 9 Blitzlampe (Blitzbeleuchtung)
- 10 Umlenkspiegel (einschwenkbar)
- 11 Umlenkspiegel (Lochspiegel)
- 12 Umlenkspiegel (einschwenkbar)
- 13 astigmatisches System
- 14 Eintrittspalt
- 15 Polychromator
- 16 Detektorsystem
- 17 Rechner

- 18 Display
- 19 Innenfixationsmarke
- 20 Meßgebiet
- 21 Bild des Eintrittsspalt des Polychromators am Augenhintergrund
- 5 22 Papille
- 23 Fovea
- 24 Gefäß
- 25 Struktur (Gefäß 24)
- 26 Meßstrahlengang
- 10 27 Meßfeld (am Augenhintergrund 3, Bild der Okularmarke 7)
- 28 Stoff
- 29 Zentrum
- 30 beleuchtetes Meßfeld
- 31 unbeleuchtetes Meßfeld
- 15 32 Lichtmeßeinheit
- 33 bewegliche konfokale Feldblende
- 34 Einrichtung zur Strahlformung und Strahlablenkung
- 35 drehbares Dove-Prisma
- 36 ausschwenkbare Planplatte
- 20 37 feststehende konfokale Feldblende
- 38 Bild der konfokalen Feldblende
- 39 Gefäßprofil
- 40 Glättungsfunktion
- 41 reguläre Gefäßreflexion
- 25 42 Modellfunktion für den spektralen Extinktionsverlauf des Vollblutes im Gefäß
- 43 Extinktionsspektrum des Vollblutes im Gefäß

## Formelzeichen

- 30  $O_2$  Sauerstoffsättigung
- $C_{Hb}$  Konzentration des sauerstofffreien Hämoglobins
- $C_{HbO_2}$  Konzentration des Oxyhämoglobins
- $\lambda$  Wellenlänge
- $E(O, \lambda)$  orts aufgelöstes Extinktionsspektrum
- 35  $E(O)$  orts aufgelöster Extinktionsverlauf bei konstanter Wellenlänge
- $E(\lambda)$  Extinktionsspektrum
- $\epsilon_{Hb}$  molarer dekadischer Extinktionskoeffizient von Hämoglobin
- $\epsilon_{HbO_2}$  molarer dekadischer Extinktionskoeffizient von Oxyhämoglobin
- $c$  Gesamtkonzentration von Hämoglobin und Oxyhämoglobin im Blut
- 40  $d$  Schichtdicke (Gefäßweite)
- $K_1, K_2$  Konstanten
- $G$  Variable
- $T$  Variable
- $S$  wellen(längen) unabhängiger Streuterm
- 45  $s$  Geometriefaktor
- $a, b, c, d$  verschiedenen Wellenlängen
- $R$  Reflexion
- $R_U$  Reflexion der Umgebung des Gefäßes
- $I$  gemessene Intensität
- 50  $I_0$  von einem Modellauge mit Weißstandard gemessene Intensität
- $I_m(O, \lambda)$  Intensität des gemessenen orts- und wellenlängenaufgelösten Signals
- $I(O, \lambda)$  Intensität des gemessenen orts- und wellenlängenaufgelösten korrigierten Signals
- $I_d(\lambda)$  Intensität des Dunkelstromes, entspricht dem Untergrundspektrum  $K(\lambda)$
- $I_{max}$  größte integrale Intensität der Imaging-Spektren
- 55  $I_i$  integrale Intensität des betrachteten Imaging-Spektrums
- $I_0$  Eingangsintensität
- $I_U(\lambda)$  korrigiert gemessenen Intensität aus der Umgebung des Gefäßes
- $I_G(\lambda)$  korrigiert gemessenen Intensität des Gefäßes
- $\Delta P$  Bewegung der Fixationsmarke für die Innenfixation
- 60  $\Delta E$  kleinste noch nachweisbare Extinktionsänderung
- $SNR$  Signal/Rausch Verhältnis
- $\sigma$  Streuung
- $\varphi$  Drehwinkel des Dove-Prismas
- $\psi$  Kippwinkel der Planplatte
- 65  $K(\lambda)$  spektrales Streulicht im Medium und in der Anordnung (Untergrundspektrum), entspricht  $I_d(\lambda)$
- $K(O, \lambda)$  orts aufgelöstes spektrales Streulicht im Medium und in der Anordnung
- $O$  Ort
- $O_m$  Orte in der Umgebung der Struktur (Gefäß)

$O_k$  Orte auf der Struktur (Gefäß)

$x$  Ortskoordinate

$t$  Anzahl der Unbekannten im Gleichungssystem (11)

$t+r$  Anzahl der Gleichungen zur Berechnung der  $t$  Unbekannten

$n$  Streuexponent

# Patentansprüche

1. Verfahren zur Messung von Stoffparametern in Schichten von Medien, insbesondere zur eichungsfreien in vivo Messung der Sauerstoffsättigung in optisch zugängigen Blutgefäßen, bei dem

— das Meßgebiet (20) mit Hilfe des durch die Okularmarke (7) angezeigten Meßfeldes (27) in einer Schicht des Mediums (Gefäß 24 und Umgebung des Gefäßes) ausgewählt wird, wobei die Okularmarke (7) und der Eintrittsspalt (14) des Polychromators (15) deckungsgleich und zentrisch in das Bild der konfokalen Feldblende (38) auf das Meßfeld (27) (Gefäß 24 und Umgebung des Gefäßes) scharf abgebildet werden, wobei

— das Meßfeld (27) vom Bild der konfokalen Blende (38) nur im zentralen Bereich des Meßfeldes (27) überdeckt wird und die Auswahl des Meßfeldes (27) bei eingeschalteter Umfeldbeleuchtung (1) erfolgt, dann

— eine mindestens einmal durchgeführte Beleuchtung mit Licht mehrerer Wellenlängen (mit der Blitzlampe 9) des Meßfeldes (27) (Gefäß 24 und Umgebung des Gefäßes) erfolgt, wobei die Randbereiche des Meßfeldes nicht beleuchtet werden,

— dabei in mindestens einer zweiten Messung eine Aufnahme des Reflexions- und Streulichtes mit einer hohen Ortsauflösung erfolgt,

— eine Zerlegung des örtlich aufgelösten Reflexions- und Streulichtes der mindestens einen Messung im Polychromator in ein vollständiges Spektrum vorgenommen wird und die spektral und örtlich aufgelösten Meßwerte gespeichert werden,

— eine Subtraktion des gemessenen spektralen Streulichtes, welches aus den Meßwerten gewonnen wird, die im unbeleuchteten Meßfeld (31) erhalten wurden, von dem im beleuchteten Meßfeld (30) gemessenen spektralen Reflexionslicht für jede Wellenlänge  $\lambda$  und jeden Ort  $O$  im beleuchteten Meßfeld (30) nach der Formel

$$I(O, \lambda) = I_m(O, \lambda) - K(\lambda)$$

erfolgt, wobei Intensitäten der korrigierten orts- und wellenlängenaufgelösten Signale  $I(O, \lambda)$  erhalten werden, durch

— Auswahl von mindestens zwei, nicht identischen Meßorten (im Bereich des beleuchteten Meßfeldes (30) auf dem Gefäß ( $O_2$ ) und in der Umgebung des Gefäßes ( $O_1$ )) und

— durch Bildung des Quotienten aus den Intensitäten der korrigierten orts- und wellenlängenaufgelösten Signale  $I(O, \lambda)$  für diese Meßpunkte und anschließendem Logarithmieren wird nach der Formel

$$E(O, \lambda) = \log \frac{I(O_1, \lambda)}{I(O_2, \lambda)} \quad (10)$$

das Extinktionsspektrum der Struktur (25) berechnet und

— eine Approximation des ermittelten Extinktionsspektrums durch eine Modellfunktion mit Hilfe nichtlinearer Ausgleichsrechnung durchgeführt und Stoffparameter bestimmt werden.

2. Verfahren zur Messung von Stoffparametern in Schichten von Medien, insbesondere zur eichungsfreien in vivo Messung der Sauerstoffsättigung in optisch zugängigen Blutgefäßen, bei dem

— das Meßgebiet (20) mit Hilfe des durch die Okularmarke (7) angezeigten Meßfeldes (27) in einer Schicht des Mediums (Gefäß 24 und Umgebung des Gefäßes) ausgewählt wird, wobei die Okularmarke (7) und der Eintrittsspalt (14) des Polychromators (15) deckungsgleich und zentrisch in das Bild der konfokalen Feldblende (38) auf das Meßfeld (27) (Gefäß 24 und Umgebung des Gefäßes) scharf abgebildet werden und die Auswahl des Meßfeldes (27) bei eingeschalteter Umfeldbeleuchtung (1) erfolgt, dann

— nach einem ersten Einstellen einer Einrichtung zur Strahlformung und Strahlablenkung (34) des Beleuchtungslichtes in den Beleuchtungsstrahlengang (2) (z. B. eine schräggestellte Planplatte 36) eine erste Beleuchtung mit Licht mehrerer Wellenlängen (mit einer Blitzlampe 9) außerhalb des eigentlichen Meßfeldes (27) erfolgt,

— dabei in einer ersten Messung das wellenlängenabhängige Streulicht, welches im Meßgerät und im Meßgebiet (20) entsteht, registriert wird, dann

— eine Zerlegung des Streulichtes der ersten Messung im Polychromator in ein vollständiges Spektrum vorgenommen wird und die spektral und örtlich aufgelösten Meßwerte gespeichert werden,

— weiterhin nach einem zweiten Einstellen der Einrichtung zur Strahlformung und Strahlablenkung (34) eine zweite, mindestens einmal durchgeführte Beleuchtung mit Licht mehrerer Wellenlängen (mit der Blitzlampe 9) des eigentlichen Meßfeldes (27) (Gefäß 24 und Umgebung des Gefäßes) erfolgt,

— dabei in mindestens einer zweiten Messung eine Aufnahme des Reflexionslichtes mit einer hohen



Ortsauflösung erfolgt,

— eine Zerlegung des örtlich aufgelösten Reflexionslichtes der mindestens einen zweiten Messung im Polychromator in ein vollständiges Spektrum vorgenommen wird und die spektral und örtlich aufgelösten Meßwerte gespeichert werden,

— eine Subtraktion des bei der ersten Messung gemessenen spektralen Streulichtes von dem bei der mindestens einen zweiten Messung gemessenen spektralen Reflexionslicht für jede Wellenlänge  $\lambda$  und jeden Ort  $O$  nach der Formel

$$I(O, \lambda) = I_m(O, \lambda) - K(\lambda)$$

erfolgt, wobei Intensitäten der korrigierten orts- und wellenlängenaufgelösten Signale  $I(O, \lambda)$  erhalten werden, durch

— Auswahl von mindestens zwei, nicht identischen Meßorten (im Bereich des beleuchteten Meßfeldes (30) auf dem Gefäß ( $O_2$ ) und in der Umgebung des Gefäßes ( $O_1$ )) und

— Bildung des Quotienten aus den Intensitäten der korrigierten orts- und wellenlängenaufgelösten Signale  $I(O, \lambda)$  für diese Meßpunkte und anschließendem Logarithmieren wird nach der Formel

$$E(O_2, \lambda) = \log \frac{I(O_1, \lambda)}{I(O_2, \lambda)} \quad (10)$$

das Extinktionsspektrum der Struktur (25) berechnet und

— eine Approximation des ermittelten Extinktionsspektrums durch eine Modellfunktion mit Hilfe nichtlinearer Ausgleichsrechnung durchgeführt und Stoffparameter bestimmt werden.

3. Verfahren nach Anspruch 2, bei dem die erste Beleuchtung mindestens einmal ausgeführt und die zweite Beleuchtung bei der gleichen Justierung der Anordnung zum Medium mehrfach (z. B. zehnfach) wiederholt wird.

4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, bei dem die Ausdehnung des Meßfeldes (27) so gewählt wird, daß gleichzeitig Reflexionslicht von der Struktur (25) (dem Gefäß 24) und deren Umgebung (Umgebung des Gefäßes) mit hoher Ortsauflösung (z. B. 12  $\mu\text{m}$ ) aufgenommen wird.

5. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, bei dem aus den ortsauflösten Extinktionsspektren  $E(O, \lambda)$  für jede Wellenlänge die ortsauflösten Extinktionsverläufe  $E(O)$  durch eine Glättungsfunktion zum Ausgleich der regulären Reflexion auf der Struktur (25) beschrieben werden.

6. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, bei dem die Auswahl der mindestens zwei voneinander entfernten Meßorte (z. B.  $O_1$ ,  $O_2$ ) so erfolgt, daß ein Mittel aus linksseitigem und rechtsseitigem Spektrum von Meßorten (z. B.  $O_{11}$ ,  $O_{12}$ ) aus der Umgebung der Struktur gebildet wird, und mit einer größeren Anzahl von Meßpunkten auf der Struktur ( $O_{2k}$ ) und in der Umgebung der Struktur ( $O_{1m}$ ) gearbeitet wird.

7. Verfahren nach den Ansprüchen 5 und 6, bei dem an den Meßpunkten auf der Struktur ( $O_{2k}$ ), bei denen reguläre Reflexion auftritt, die Werte der Glättungsfunktion zur Kennzeichnung der Extinktion der Struktur herangezogen werden.

8. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, bei dem an den Orten auf der Struktur ( $O_{2k}$ ), bei denen reguläre Reflexion auftritt, die Werte aus einer Interpolation zwischen den örtlichen Grenzen der regulären Reflexion herangezogen werden.

9. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, bei dem die Einflüsse der Relativbewegungen zwischen der Meßanordnung und dem Meßgebiet (20) bei Mehrfachmessungen so ausgeglichen werden, daß die von unterschiedlichen Pixeln der Empfängermatrix (Detektorsystem 16) detektierten Intensitäten des gemessenen orts- und wellenlängenaufgelösten Signals  $I_m(O, \lambda)$  nach dem Kriterium der maximalen Korrelation in der Ortskoordinate  $x$  verschoben werden, wobei ein ausgewählter Bildausschnitt als Vorlage für die Korrelation dient und der Bildausschnitt der Teil des Meßfeldes (27) ist, der die Struktur (25) und deren unmittelbare Umgebung enthält, und als Ergebnis der Korrelationsrechnung ein Durchschnitt aller Bilder erhalten wird.

10. Verfahren nach Anspruch 9, bei dem die Einflüsse von Schwankungen der Lichtintensität zwischen aufeinanderfolgenden Messungen, die im Durchschnitt aller Bilder noch enthalten sind, ausgeglichen werden, indem die integralen Intensitäten  $I_i$ , die durch Summation der korrigierten Intensitäten  $I(O, \lambda)$  über die Orte  $O$  und die Wellenlänge  $\lambda$  erhalten werden, im Durchschnitt aller verschobenen Bilder berechnet und die Imaging-Spektren auf die maximale integrale Intensität  $I_{\max}$  skaliert werden und eine Multiplikation jedes Pixelwertes des  $i$ -ten Imaging-Spektrums mit dem Faktor  $I_{\max}/I_i$  erfolgt und anschließend aus den verschobenen und skalierten Imaging-Spektren eine pixelweise Mittelbestimmung vorgenommen wird.

11. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, bei dem parallel zu jeder Messung die Lichtenergie mit einer Lichtmeßeinheit (32) an der Lichtquelle gemessen wird und ein Ausgleich von Schwankungen der Energie der Lichtblitze der einzelnen Messungen dadurch erreicht wird, daß ein Quotient aus der höchsten Energie des Lichtblitzes innerhalb einer Folge von Blitzen und der betrachteten Energie des Lichtblitzes gebildet wird, mit dem die von jedem Pixel des Detektorsystems (16) gemessenen Intensität multipliziert wird.

12. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, bei dem die Modellfunktion stoffspezifisch und/oder strukturspezifisch und/oder medienspezifisch aufgestellt wird.

13. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, bei dem die nichtlineare Ausgleichsrechnung nach dem Kriterium einer geeigneten Fehlerfunktion zwischen den Werten der Modellfunktion und den gemessenen Werten des Extinktionsspektrums  $E(\lambda)$  erfolgt, insbesondere nach dem Kriterium der kleinsten Fehlerquadratsumme



zwischen der Modellfunktion und den gemessenen Werten des Extinktionsspektrums.

14. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, bei dem die Beleuchtung für die Messung (Blitzlampe 9) mittels gehopperten Lichtes oder einer Blitzlampe (9) oder eines gepulsten Mehrlinien-Lasers durchgeführt wird.

15. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, bei dem mit einem Patientenauge (4) als Medium

— eine Fixation des Patientenauges anhand einer Innenfixationsmarke erfolgt und

— die Ausleuchtung des Augenhintergrundes so vorgenommen wird, daß bei der Auswahl eines Meßgebietes (20) und der Positionierung des Meßfeldes (27) am Augenhintergrund (3) ein zu untersuchendes Gefäß (24) überdeckt wird und

— das Bild des Augenhintergrundes durch Drehen eines Dove-Prismas (35) um den Winkel  $\phi$  so eingestellt wird, daß das Meßfeld (27) das zu untersuchende Gefäß (24) senkrecht schneidet und ein Scharfstellen des Augenhintergrundes (3) und des Bildes der konfokalen Feldblende (38) durch einen gemeinsamen Dioptrienausgleich durchgeführt wird.

16. Verfahren nach Anspruch 9 und 15 und 1 oder 2, bei dem für Messungen am Probandenauge das gemessene Extinktionsspektrum des Vollblutes (Stoff 28) im Gefäß (24, entspricht der Struktur 25) durch die Modellfunktion nach der Formel

$$E_{\lambda} = S + n \cdot \log\left(\frac{1}{\lambda}\right) + c \cdot d \cdot s \cdot \left( \varepsilon_m(\lambda) + OS \left[ \varepsilon_{m02}(\lambda) - \varepsilon_m(\lambda) \right] \right) \quad (11)$$

approximiert und die Sauerstoffsättigung (OS) des Vollblutes, das Konzentrations-Schichtdicken-Geometrie-Produkt ( $c \cdot d \cdot s$ ), die Streuintensität (S) und der Streuexponent (n) als Modellparameter (Stoffparameter des Stoffes 28) bestimmt werden.

17. Anordnung zur Messung von Stoffparametern in Schichten von Medien, insbesondere zur eichungsfreien in vivo Messung der Sauerstoffsättigung in optisch zugängigen Blutgefäßen, bei der ein Reflektometer zur spektrometrischen Untersuchung von Strukturen in Schichten von Medien, insbesondere am menschlichen Auge, (Ophthalmoskop, Netzhautkamera) verwendet wird, bei dem gleichzeitig gleiche Beleuchtungsbedingungen durch eine Beleuchtung (mit einer Blitzlampe 9) an benachbarten Untersuchungsorten in x-Richtung vorliegen und im Beobachtungsstrahlengang eine Okularmarke (7) vor dem Untersucherauge (6) angeordnet ist, deren Bild in der zu untersuchenden Schicht (am Augenhintergrund 3) deckungsgleich mit dem Bild eines Eintrittsspalt (14) ist, wobei im Meßstrahlengang (26) nacheinander ein astigmatisches System (13), ein Eintrittsspalt (14), ein Polychromator (15) und ein Detektorsystem (16) angeordnet sind und das Detektorsystem (16) mit einem Rechner (17) zur Auswertung und Anzeige (18) verbunden ist dadurch gekennzeichnet, daß eine Einrichtung zur Strahlformung und Strahlablenkung (34) zwischen Blitzlampe (9) und dem einschwenkbaren Umlenkspiegel (10) im Beleuchtungsstrahlengang (2) angeordnet ist.

18. Anordnung nach Anspruch 17, bei der die Einrichtung zur Strahlformung und Strahlablenkung (34) aus einer feststehenden, kreisförmigen konfokalen Feldblende (37), die zwischen Beleuchtung (Blitzlampe 9) und Umlenkspiegel (11) (Lochspiegel) angeordnet ist, und einer einschwenkbaren, schräggestellten Planplatte (36), die in Lichtrichtung gesehen nach der Feldblende (37) angeordnet ist, besteht.

19. Anordnung nach Anspruch 17, bei der die Einrichtung zur Strahlformung und Strahlablenkung (34) aus einer senkrecht zur optischen Achse beweglichen konfokalen Feldblende (33), die zwischen Beleuchtung (Blitzlampe 9) und Umlenkspiegel (11) (Lochspiegel) angeordnet ist, besteht.

20. Anordnung nach Anspruch 17, bei der ein um die optische Achse drehbares Dove-Prisma zwischen dem einschwenkbaren Umlenkspiegel (12) und dem Umlenkspiegel (11) (Lochspiegel) im gemeinsamen Beobachtungsstrahlengang (5) und Meßstrahlengang (26) angeordnet ist.

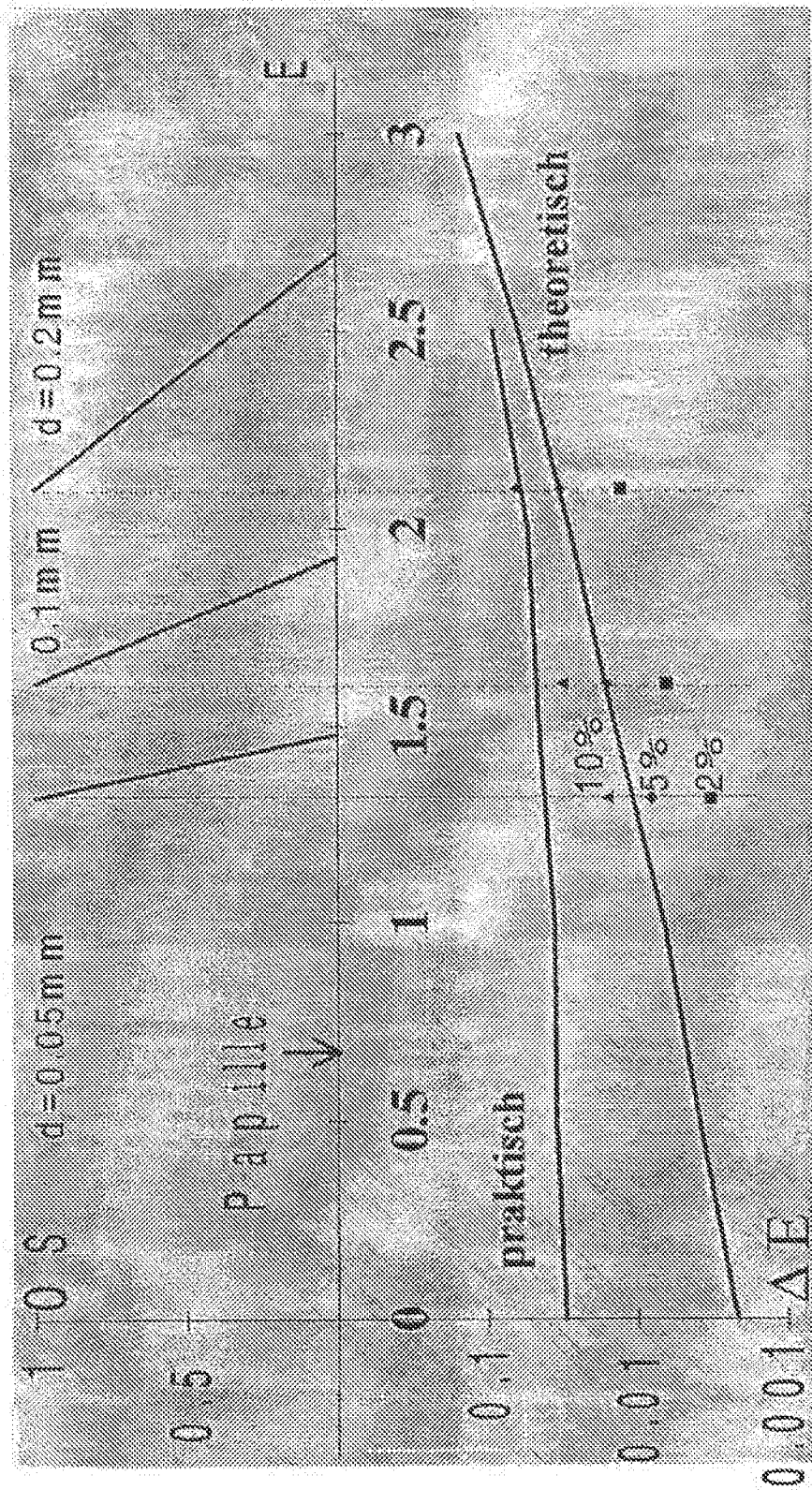
21. Anordnung nach Anspruch 17, bei der eine im Beleuchtungsstrahlengang (2) Innenfixationsmarke (19) in einer zum Meßfeld (27) konjugierten Ebene in drei Raumrichtungen bewegbar angeordnet ist.

22. Anordnung nach Anspruch 17, bei der ein gleichzeitig wirkender Fehlsichtigkeitsausgleich des Probandenauges im Beobachtungsstrahlengang (5), im Meßstrahlengang (26) und im Beleuchtungsstrahlengang (2) angeordnet ist oder in Teilen des gemeinsamen Strahlenganges erfolgt.

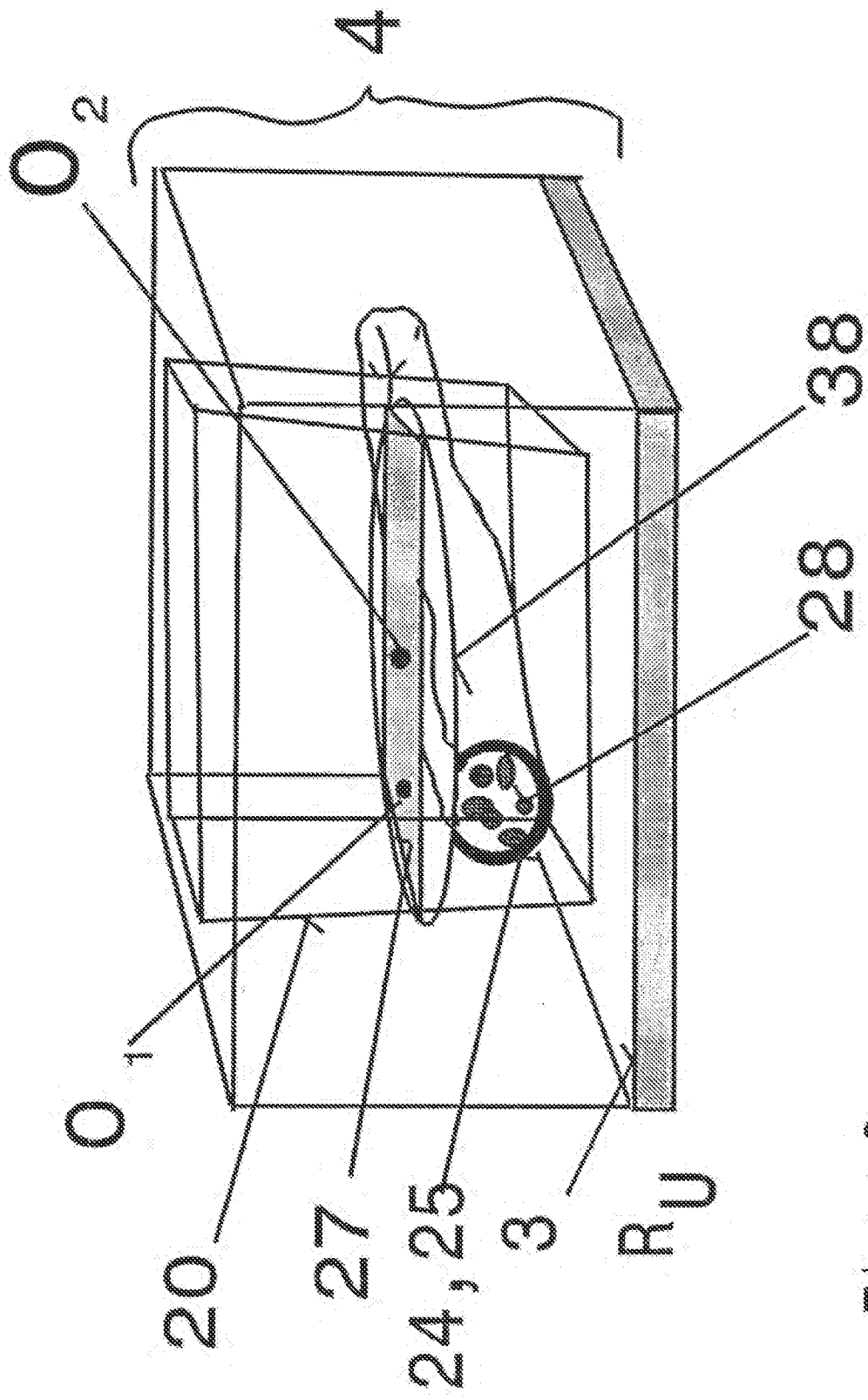
23. Anordnung nach Anspruch 18 oder 19, bei der die konfokale Feldblende (33 oder 37) kreisförmig ist und in ihrem Durchmesser so bemessen ist, daß das Bild der konfokalen Blende (38) symmetrisch zum Meßfeld (27) liegt und diese teilweise oder vollständig überdeckt.

24. Anordnung nach Anspruch 17, bei der an der Beleuchtung (Blitzlampe 9) eine integrale Lichtmeßeinrichtung (32) zur Messung der Blitzenergie angebracht ist, die mit der Rechen- und Auswerteeinheit (17) verbunden ist.

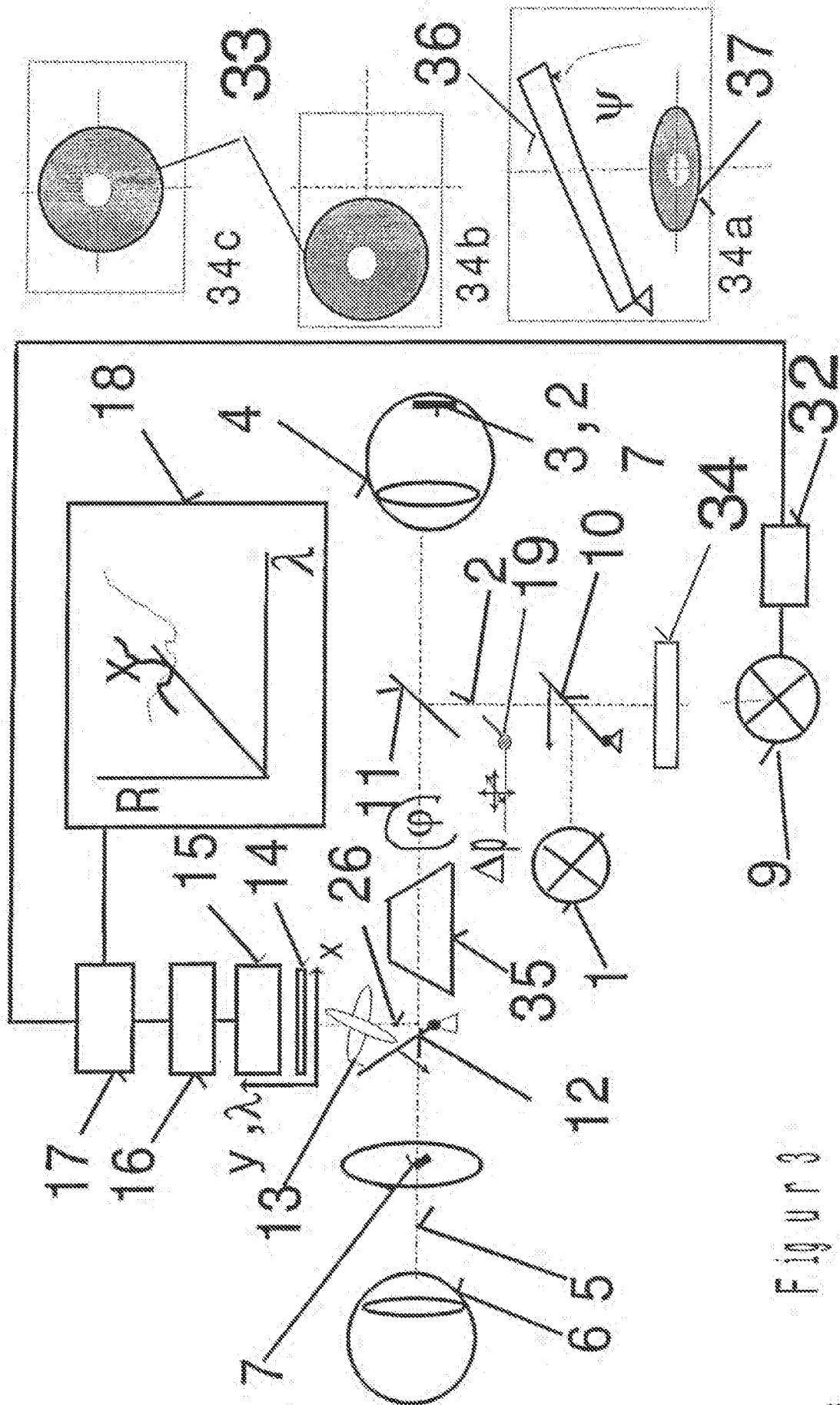
Hierzu 11 Seite(n) Zeichnungen

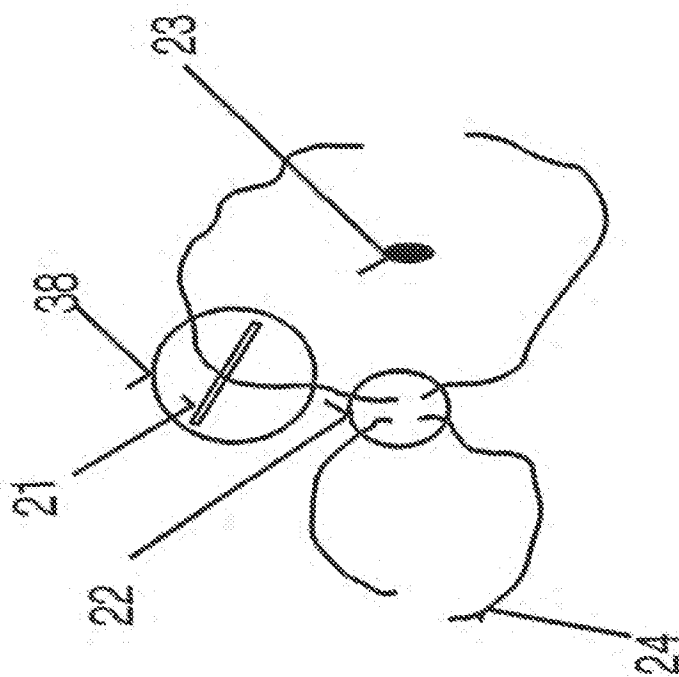


Figur 1

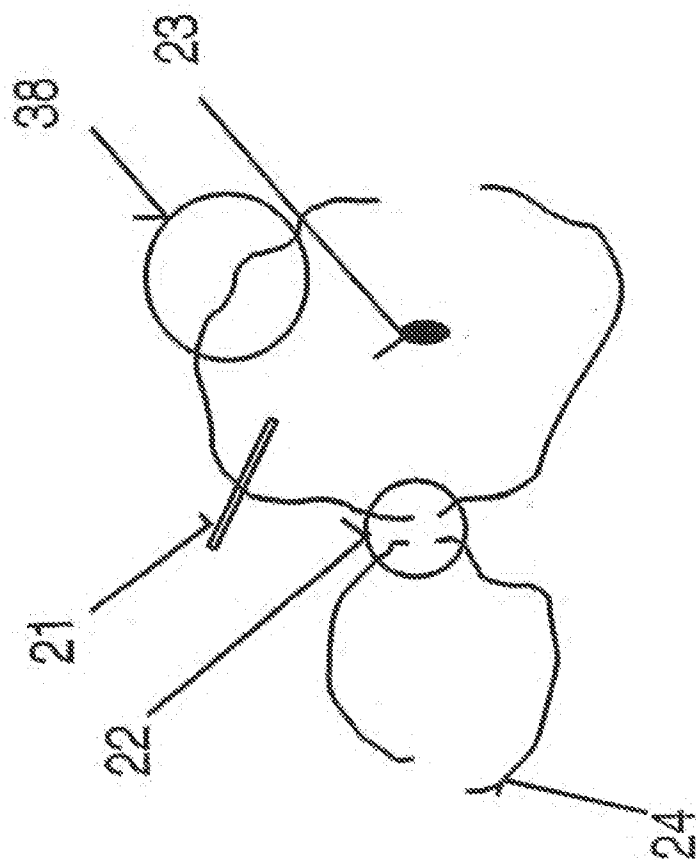


Figur 2

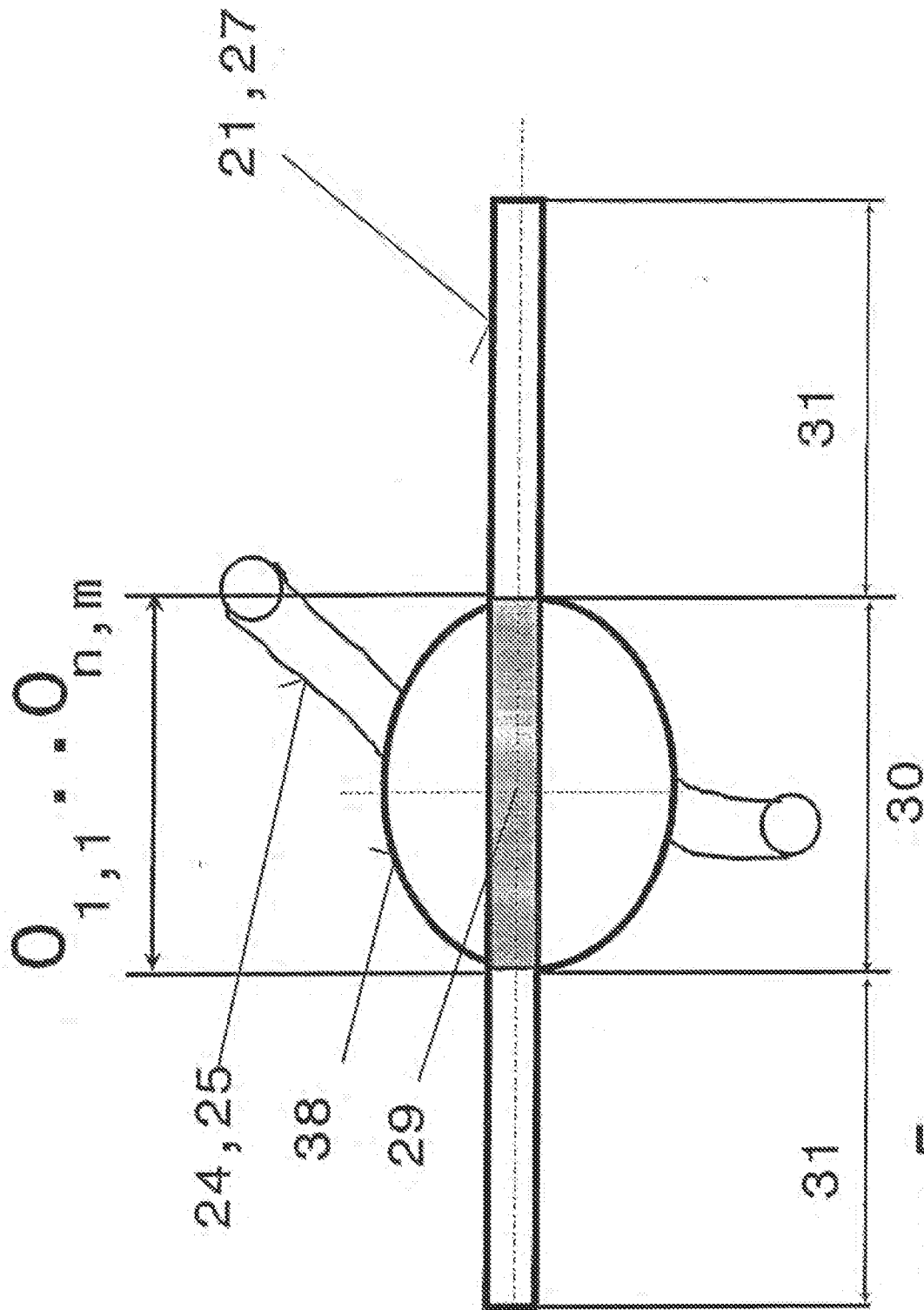




Figur 4b

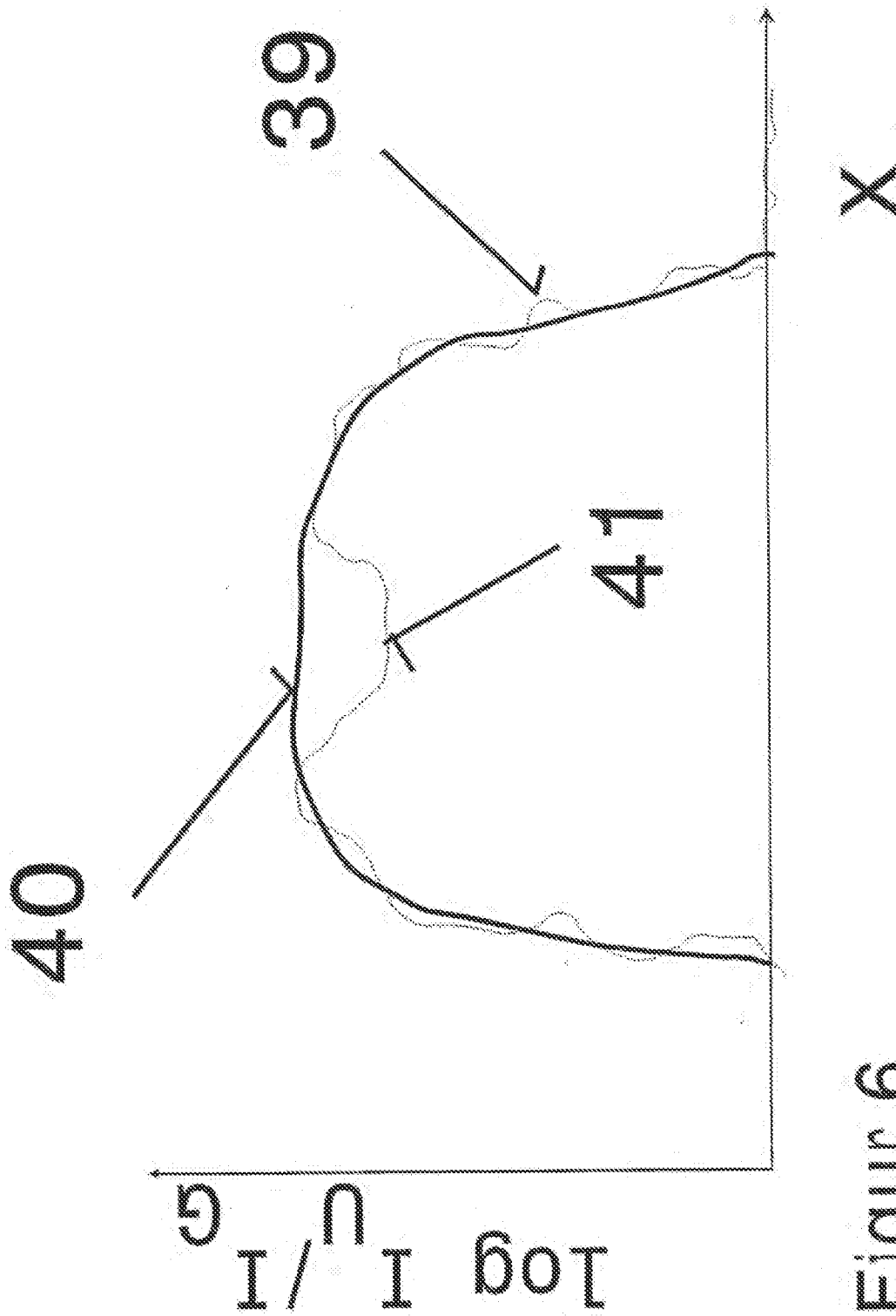


Figur 4a

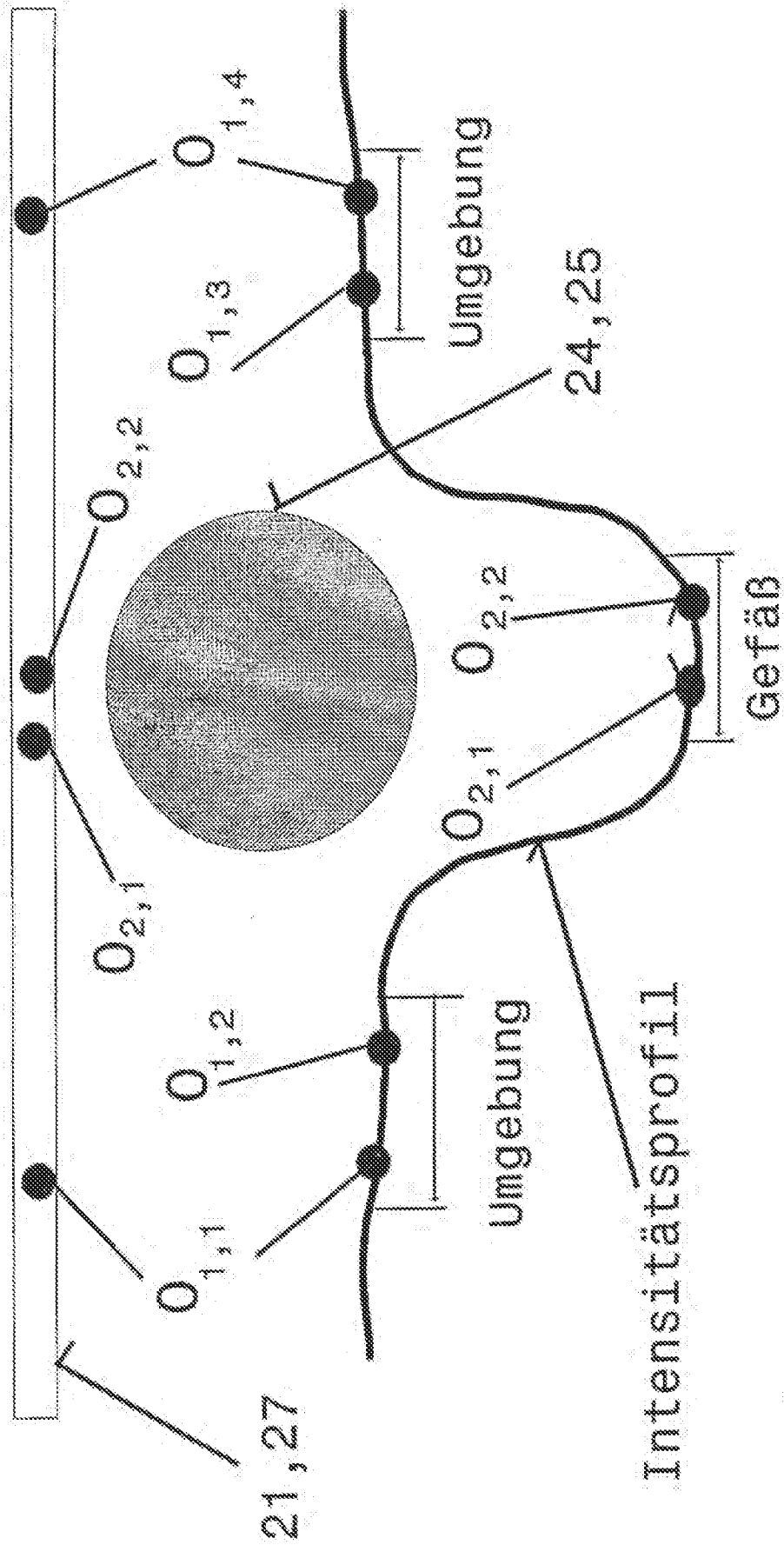


Figur 5



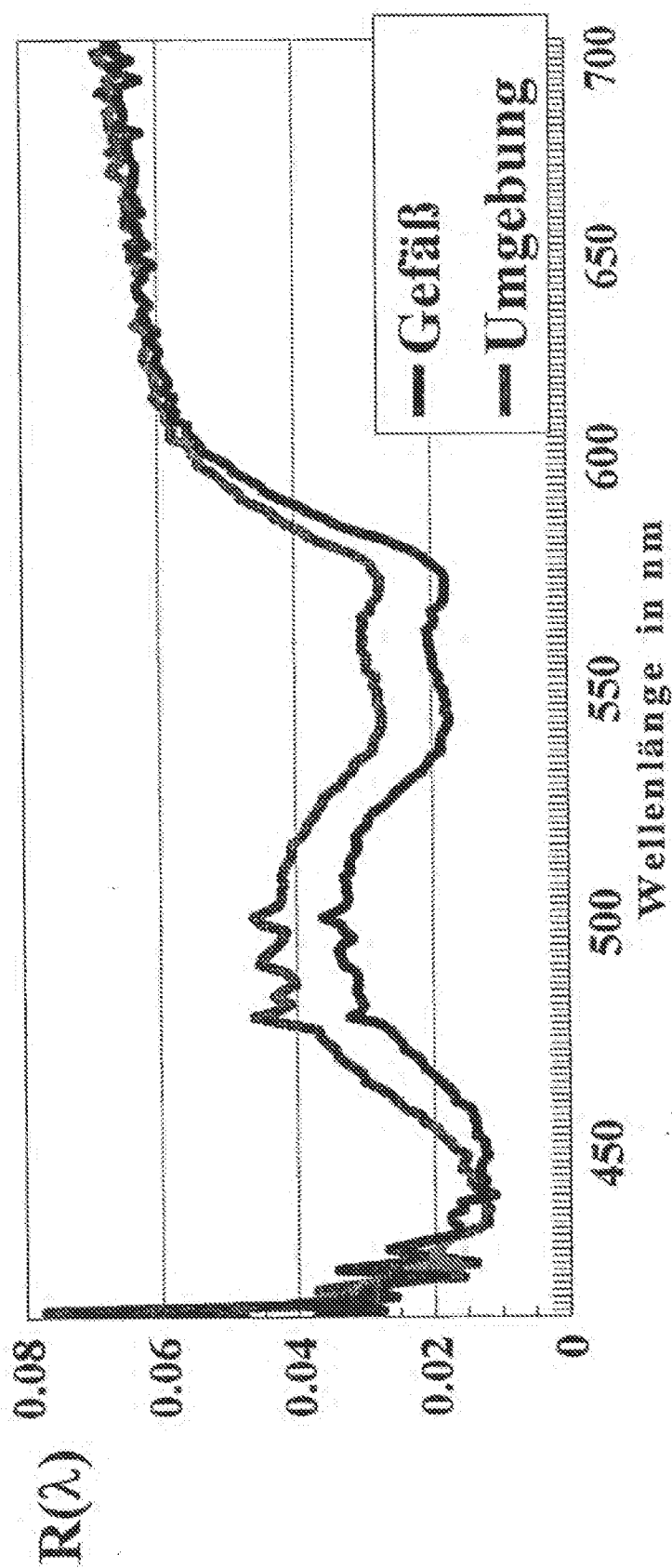


Figur 6

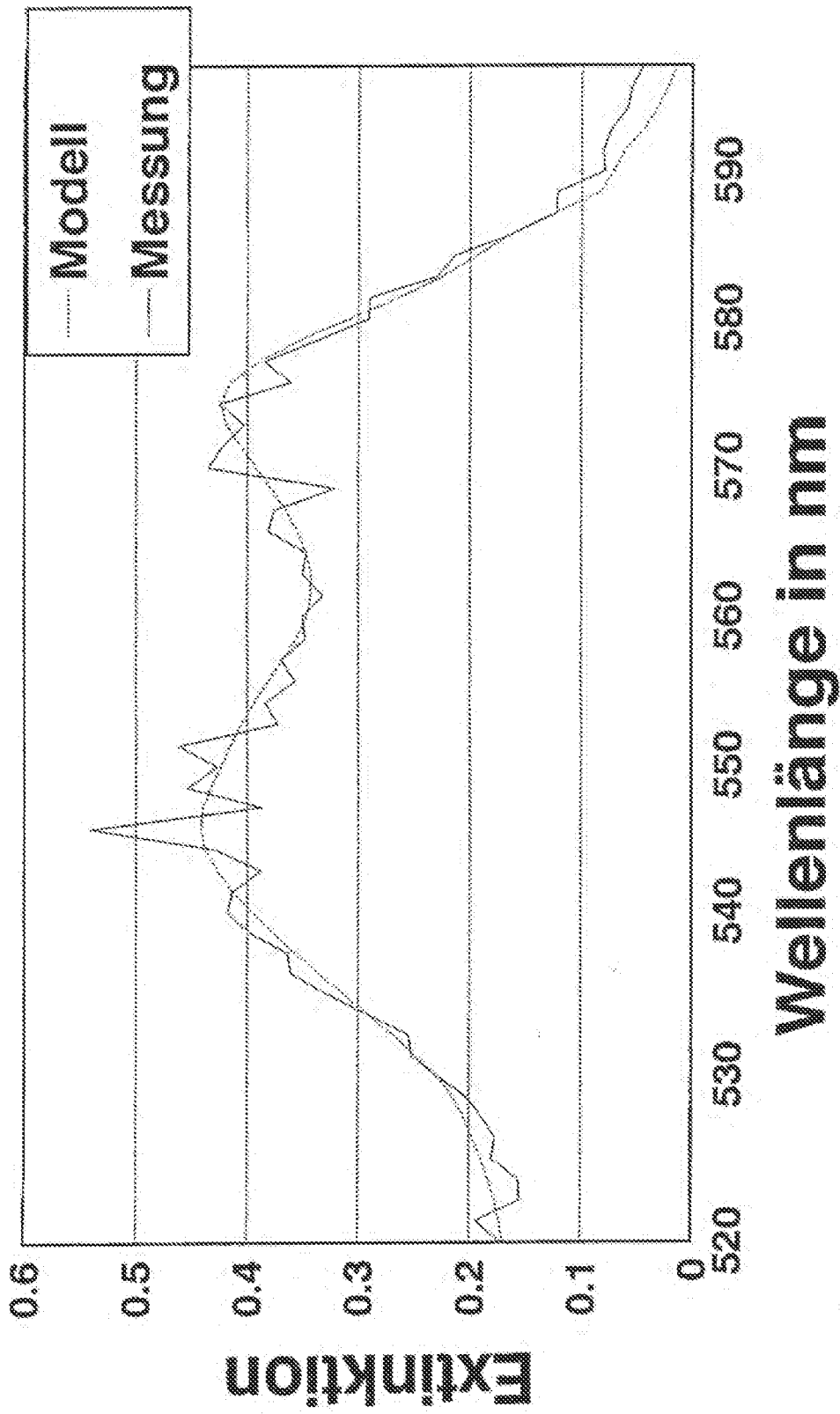


Figur 7

## Reflexionsspektren

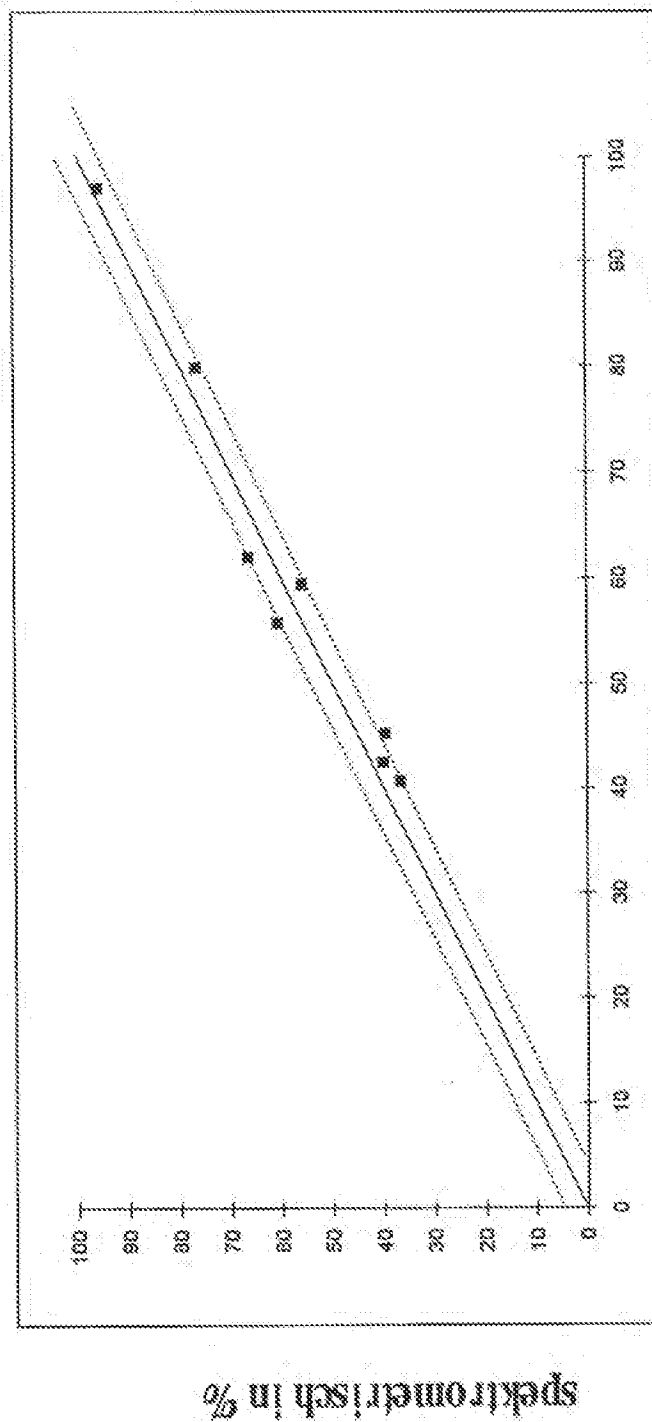


Figur 8



Figur 9

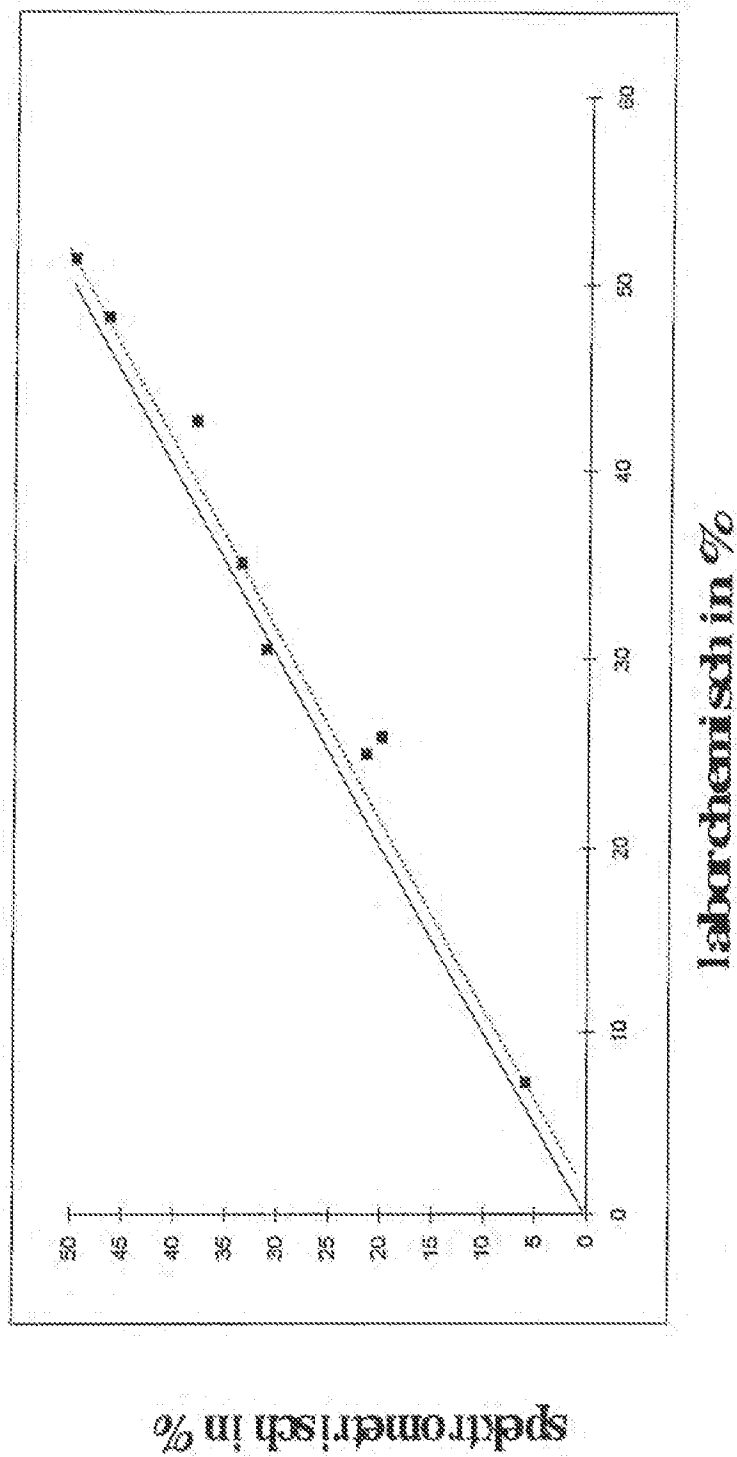
# arterielle Sauerstoffsättigung



laborchemisch in %

Figur 10

# venöse Sauerstoffsättigung



Figur 11